

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP04/019508

International filing date: 27 December 2004 (27.12.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP
Number: 2003-434073
Filing date: 26 December 2003 (26.12.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 03 March 2005 (03.03.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

28.12.2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されて
いる事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed
with this Office.

出願年月日 2003年12月26日
Date of Application:

出願番号 特願2003-434073
Application Number:

[ST. 10/C] : [JP2003-434073]

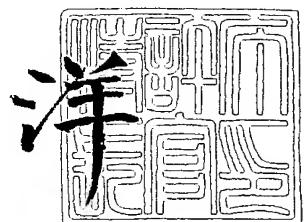
出願人 松下電器産業株式会社
Applicant(s):



2005年 2月18日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小川



【書類名】 特許願
【整理番号】 2892050245
【提出日】 平成15年12月26日
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 G01N 27/447
【発明者】
【住所又は居所】 愛媛県温泉郡川内町南方 2131 番地 1 松下寿電子工業株式会社内
【氏名】 森 一芳
【発明者】
【住所又は居所】 愛媛県温泉郡川内町南方 2131 番地 1 松下寿電子工業株式会社内
【氏名】 橋本 英明
【発明者】
【住所又は居所】 愛媛県温泉郡川内町南方 2131 番地 1 松下寿電子工業株式会社内
【氏名】 西田 育
【発明者】
【住所又は居所】 愛媛県温泉郡川内町南方 2131 番地 1 松下寿電子工業株式会社内
【氏名】 天野 良則
【発明者】
【住所又は居所】 愛媛県温泉郡川内町南方 2131 番地 1 松下寿電子工業株式会社内
【氏名】 清水 隆次
【発明者】
【住所又は居所】 愛媛県温泉郡川内町南方 2131 番地 1 松下寿電子工業株式会社内
【氏名】 安藤 寛
【発明者】
【住所又は居所】 愛媛県温泉郡川内町南方 2131 番地 1 松下寿電子工業株式会社内
【氏名】 中西 謙治
【発明者】
【住所又は居所】 愛媛県温泉郡川内町南方 2131 番地 1 松下寿電子工業株式会社内
【氏名】 柳原 直樹
【発明者】
【住所又は居所】 愛媛県温泉郡川内町南方 2131 番地 1 松下寿電子工業株式会社内
【氏名】 林 美穂
【特許出願人】
【識別番号】 000005821
【氏名又は名称】 松下電器産業株式会社
【代理人】
【識別番号】 100081813
【弁理士】
【氏名又は名称】 早瀬 憲一
【電話番号】 06(6395)3251

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 013527
【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 特許請求の範囲 1
【物件名】 明細書 1
【物件名】 図面 1
【物件名】 要約書 1
【包括委任状番号】 9600402

【書類名】特許請求の範囲**【請求項 1】**

生体サンプルを緩衝剤中で移動させた際に得られる輸送反応を検出して、該生体サンプルの判別を行う生体サンプル判別装置において、

前記緩衝剤が注入される第1の流路と、該第1の流路とその一部の流路を共通にする前記生体サンプルが注入される第2の流路とが形成されたプレートを充填ユニットで高速回転させて、前記第1の流路に前記緩衝剤を充填させると共に、前記第2の流路に前記生体サンプルを遠心分布させ、

該生体サンプルが遠心分布された状態の第2の流路を検出ユニットで加圧して、該第2の流路に前記生体サンプルを充填させ、

前記プレートを前記充填ユニットで高速回転させて、前記第2の流路に充填された生体サンプルのうちの一定量を前記第1の流路に充填された緩衝剤中に添加した後、

前記緩衝剤中を移動する前記生体サンプルの輸送反応を検出する、
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

【請求項 2】

請求項1に記載の生体サンプル判別装置において、

前記第1の流路に充填された前記緩衝剤中を移動する前記生体サンプルの輸送反応を検出する光学検出部を備え、

前記充填ユニットは、前記プレートを高速回転させる高速回転モータを備え、

前記検出ユニットは、前記第2の流路を加圧する加圧部を備える、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

【請求項 3】

請求項2に記載の生体サンプル判別装置において、

前記プレートを上下移動させる昇降ステージを備え、

当該装置の下部に前記昇降ステージを設け、

該昇降ステージ上に前記充填ユニット及び前記光学検出部を設け、

当該装置の上部に前記検出ユニットを設ける、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

【請求項 4】

請求項2に記載の生体サンプル判別装置において、

前記検出ユニットは、前記第1の流路の温度をサーミスタで測定し、該測定結果に応じて該第1の流路を所定の温度になるよう制御するヒータを備え、

前記第1の流路を前記ヒータで所定の温度にした後、前記緩衝剤中を移動する前記生体サンプルの輸送反応を検出する、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

【請求項 5】

請求項4に記載の生体サンプル判別装置において、

前記検出ユニットは、前記ヒータ及びサーミスタの代わりに、前記プレートに設けられたヒータ及びサーミスタに、電圧を印加するヒータ接点ピン及びサーミスタ接点ピンを備える、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

【請求項 6】

請求項4に記載の生体サンプル判別装置において、

前記ヒータを、前記第1の流路上に配置し、前記サーミスタを、該ヒータから、前記第1の流路と前記ヒータ間の距離だけ離れた位置に配置する、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

【請求項 7】

請求項4に記載の生体サンプル判別装置において、

前記サーミスタを、前記第1の流路上に配置し、前記ヒータを、該サーミスタから、前記第1の流路と前記サーミスタ間の距離だけ離れた位置に配置する、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

【請求項8】

請求項2に記載の生体サンプル判別装置において、

前記検出ユニットは、前記プレートに設けられた嵌合ピン孔に挿入される嵌合ピンと、該検出ユニットを低速回転させる低速回転モータと、を備え、

該嵌合ピンで前記プレートを当該検出ユニットに嵌合して固定した後、該検出ユニットと共に前記プレートを前記低速回転モータで低速回転させ、該プレートの低速回転中に、前記光学検出部で前記緩衝剤中を移動する前記生体サンプルの輸送反応を検出する、ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

【請求項9】

請求項8に記載の生体サンプル判別装置において、

前記検出ユニットは、前記プレートに設けられた位置決めマークを検出する位置決めマーク検出センサを備え、

前記低速回転モータで前記プレートを低速回転させて、該位置決めマーク検出センサで前記プレートの嵌合ピン孔を検出して、該プレートの位置決めをした後、該嵌合ピン孔に前記嵌合ピンを挿入する、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

【請求項10】

請求項2に記載の生体サンプル判別装置において、

前記検出ユニットは、正電極、負電極を備え、

前記プレートを前記充填ユニットで高速回転させて、前記第2の流路に充填された生体サンプルのうちの一定量を前記第1の流路に充填された緩衝剤中に添加した後、前記第1の流路中に前記正電極及び負電極を挿入して、該正電極と負電極間に電圧を印加し、前記緩衝剤中に添加された前記生体サンプルを、電気泳動によって移動させ、該緩衝材中を移動する前記生体サンプルの輸送反応を検出する、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

【請求項11】

請求項10に記載の生体サンプル判別装置において、

前記プレートに、前記正電極、負電極を洗浄する洗浄領域を設け、

前記検出ユニットは、前記正電極、負電極を前記洗浄領域で洗浄した後、該正電極と負電極を前記第1の流路に挿入する、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

【請求項12】

請求項10に記載の生体サンプル判別装置において、

前記検出ユニットは、前記正電極及び負電極の代わりに、前記プレートに設けられた正電極及び負電極に、電圧を印加する2本の電極接点ピンを備える、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

【請求項13】

請求項10または請求項12に記載の生体サンプル判別装置において、

前記生体サンプルは、DNAサンプルであり、前記緩衝剤は、該DNAサンプルに含まれる検出対象である目的DNAに水素結合可能な塩基配列を結合したリニアポリマーからなる分離用DNAコンジュゲートと、DNA結合制御剤とを含むものである、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

【請求項14】

請求項2、請求項4、請求項5、請求項8、請求項10、請求項12のいずれかに記載の生体サンプル判別装置において、

前記検出ユニットに備えられている各構成要素は、当該装置上部に設けた天井板からバネを介して懸架される、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

【請求項15】

請求項1に記載の生体サンプル判別装置において、
当該装置内の上昇した温度を冷却する冷却ファンを設け、
該冷却ファンの空気取り入れ口に、当該装置外部から入射される光を遮断する光遮断部
を設ける、
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

【請求項16】

請求項15に記載の生体サンプル判別装置において、
前記光遮断部は、多孔質膜からなる、
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

【請求項17】

請求項15に記載の生体サンプル判別装置において、
前記光遮断部は、L字形状もしくはクランク形状の邪魔板からなる、
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

【請求項18】

請求項3に記載の生体サンプル判別装置において、
前記昇降ステージ上に、前記プレートとの距離を測定する距離測定部を備え、
前記光学検出部に設けられた該光学検出部の高さを調整する高さ調整部で、前記距離測
定部の測定結果が一定になるよう調整する、
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

【請求項19】

請求項18に記載の生体サンプル判別装置において、
前記高さ調整部は、アクチュエータである、
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

【請求項20】

生体サンプルを緩衝剤中で移動させた際に得られる輸送反応を検出して、該生体サンプ
ルの判別を行う生体サンプル判別方法において、

前記緩衝剤が注入される第1の流路と、該第1の流路とその一部の流路を共通にする前
記生体サンプルが注入される第2の流路とが形成されたプレートを高速回転させて、該第
1の流路に前記緩衝剤を充填させると共に、該第2の流路に前記生体サンプルを遠心分布
させ、

前記生体サンプルが遠心分布された状態の第2の流路を加圧して、該第2の流路に前記
生体サンプルを充填させ、

前記プレートを高速回転させて、前記第2の流路に充填された前記生体サンプルのうち
の一定量を前記第1の流路に充填された緩衝剤中に添加して、

前記第1の流路を一定温度にした後、
該第1の流路に充填された緩衝剤中を移動する前記生体サンプルの輸送反応を検出する
、
ことを特徴とする生体サンプル判別方法。

【請求項21】

生体サンプルを電気泳動により緩衝剤中で移動させた際に得られる輸送反応を検出して
、該生体サンプルの判別を行うための流路パターンを有する生体サンプル判別装置用プレ
ートであって、

前記流路パターンは、前記緩衝剤がその一部に注入され、当該生体サンプル判別装置用
プレートを高速回転させると該緩衝剤が充填される第1の流路と、

前記生体サンプルがその一部に注入され、当該生体サンプル判別装置用プレートを高速
回転させると該生体サンプルが遠心分布され、加圧されると該生体サンプルが充填される
、前記第1の流路とその流路の一部を共通にする第2の流路と、

前記第1の流路の一部に設けられ、負電極、正電極が挿入される第1、第2の電極挿入
部と、を備える、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置用プレート。

【請求項22】

請求項21に記載の生体サンプル判別装置用プレートにおいて、

前記第1の流路は、当該生体サンプル判別装置用プレートの中心を円心とした円の円周方向に伸びる弧状流路の内周側である内周流路と、外周側にある外周流路と、該内周流路と外周流路のそれぞれの両端を接続する前記円心から放射方向に伸びる放射流路とで周回形状を有する流路からなり、

前記第2の流路は、前記内周流路と前記外周流路間に位置する前記弧状流路と、その弧状流路一部に設けられたコの字形状の流路と、からなり、

前記接触部は、前記外周流路の一部と、前記第2の流路の前記コの字形状を有する流路の一部とが平行に接してなる、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置用プレート。

【請求項23】

請求項22に記載の生体サンプル判別装置用プレートにおいて、

前記第1、第2の電極挿入部は、前記第1の流路の前記放射流路の一部に設けられる、
ことを特徴とする生体サンプル判別装置用プレート。

【請求項24】

請求項22に記載の生体サンプル判別装置用プレートにおいて、

前記第1の流路の前記内周流路のほぼ中央に、前記緩衝剤を注入する第1のサンプル注入部を設ける、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置用プレート。

【請求項25】

請求項22に記載の生体サンプル判別装置用プレートにおいて、

前記緩衝剤を第1の流路に充填させた際、該緩衝剤は、前記第1の流路のうちの、前記外周流路及び前記第1、第2の電極挿入部に充填される、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置用プレート。

【請求項26】

請求項22に記載の生体サンプル判別装置用プレートにおいて、

前記内周流路の前記弧状流路は、該流路が円弧上から前記外周流路側にすこしずれた梢円円弧上にある、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置用プレート。

【請求項27】

請求項22に記載の生体サンプル判別装置用プレートにおいて、

前記内周流路の流路幅は、前記外周流路の流路幅より広い、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置用プレート。

【請求項28】

請求項22に記載の生体サンプル判別装置用プレートにおいて、

前記外周流路は、前記第1の電極挿入部から前記接触部までの流路の長さと、前記第2の電極挿入部から該接触部までの流路の長さとの差を調整する流路長調整部を有する、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置用プレート。

【請求項29】

請求項22に記載の生体サンプル判別装置用プレートにおいて、

前記第2の流路の一端に、前記生体サンプルを注入する第2のサンプル注入口を設け、
そのもう一端に、前記第2の流路に前記生体サンプルを充填する際に、前記第2のサンプル注入口から移動した生体サンプルを保持するサンプルプールを設ける、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置用プレート。

【請求項30】

請求項21に記載の生体サンプル判別装置用プレートにおいて、

前記第1の流路の上部に、該第1の流路を加熱するヒータ及び該第1の流路の温度を測定するサーミスタを設け、

前記第1、第2の電極挿入部中に、正電極及び負電極を設ける、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置用プレート。

【請求項31】

請求項21に記載の生体サンプル判別装置用プレートにおいて、前記第1、第2の電極挿入部は、空気孔を有する、ことを特徴とする生体サンプル判別装置用プレート。

【請求項32】

請求項29に記載の生体サンプル判別装置用プレートにおいて、前記サンプルプールは、空気孔を有する、ことを特徴とする生体サンプル判別装置用プレート。

【請求項33】

請求項21に記載の生体サンプル判別装置用プレートにおいて、前記生体サンプルはDNAサンプルであり、前記緩衝剤は、該DNAサンプルに含まれる検出対象である目的DNAに水素結合可能な塩基配列を結合したリニアポリマーからなる分離用DNAコンジュゲートと、DNA結合制御剤とを含むものである、ことを特徴とする生体サンプル判別装置用プレート。

【請求項34】

請求項21に記載の生体サンプル判別装置用プレートにおいて、前記第1、第2の電極挿入部に、前記正電極、負電極を挿入するための電極挿入口を設け、該電極挿入口には、カバーフィルムを貼る、ことを特徴とする生体サンプル判別装置用プレート。

【請求項35】

請求項21に記載の生体サンプル判別装置用プレートにおいて、当該生体サンプル判別装置用プレート上に、前記流路パターンを複数個形成する、ことを特徴とする生体サンプル判別装置用プレート。

【請求項36】

請求項21に記載の生体サンプル判別装置用プレートにおいて、当該生体サンプル判別装置用プレートに、前記正電極、負電極を洗浄する洗浄領域を設け、前記正電極、負電極を前記洗浄領域で洗浄した後、該正電極と負電極を前記第1の流路に挿入する、ことを特徴とする生体サンプル判別装置用プレート。

【書類名】明細書

【発明の名称】生体サンプル判別装置、生体サンプル判別方法、及び生体サンプル判別装置用プレート

【技術分野】

【0001】

本発明は、DNAやタンパクその他の生体サンプルを緩衝剤中で移動させ、その輸送反応を検出して生体サンプルを判別する生体サンプル判別装置、生体サンプル判別方法、及び生体サンプル判別装置用プレートに関する。

【背景技術】

【0002】

一般的な生体サンプルを考えた場合、大きくはDNAとタンパクが存在している。そして、近年、分子生物学の急速な進展によって、様々な疾患において遺伝子の関与がかなり正確に理解されるようになり、遺伝子をターゲットにした医療に注目が集まるようになってきている。

【0003】

DNAに関しては、現在SNPs (single nucleotide polymorphismの略で「1塩基多型」と一般に訳されており、遺伝子における1暗号（1塩基）の違いの総称である。)が注目されている。その理由としては、SNPsの分類により、多くの疾患に対する罹患率や各個人の薬剤に対する効果や感受性を予測でき、さらには、地球上に親子兄弟といえども全く同じSNPsを持つ人間は絶対に存在しないことから個人の完全な特定ができると考えられているからである。

【0004】

現在SNPsを調べる方法としては、DNAの塩基配列を端から直接読んでいくシーケンシング（塩基配列の決定）が最も一般的に用いられている。そして、前記シーケンシングを行う方法としては、いくつかの報告があるが、もっとも一般的に行われているのは、ジデオキシシケリング（Sanger法）である。なお、シーケンシングは、このSanger法を含め何れの方法においても、分離能の高い変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動か、キャピラリー電気泳動によって1塩基長の長さの違いを分離・識別する技術が基になって成り立っている。そして、このようなシーケンシング法によるSNPsの分類は、ターゲットとする遺伝子を単離した後、増幅・精製し、遺伝子の塩基配列決定法（装置）を用いて、目的遺伝子の塩基配列を読むことによって行なうものであるため、実験に膨大な作業量と時間、さらには多大のランニングコストを要し、またその際に使用する塩基配列決定のための自動化装置は、非常に高価で、大きなスペースを占有し、高価な試薬を大量に必要とするという問題を有している。

【0005】

こうした問題点は、アフィニティリガンドキャピラリー電気泳動によってDNAを分離する方法を用いればほぼ解決できる。アフィニティリガンドキャピラリー電気泳動は、分子間親和力、とくに生態系における特異的親和力（酵素と基質、抗原と抗体の親和力等）を利用して分離に特異性を持たせるものであり、具体的には、キャピラリー管中の泳動溶液に、相互作用する二成分のうちの一方を添加しておき、他方の成分を電気泳動させると、試料混合物中で相互作用する分子種だけが移動速度に変化を生じることに着目して分析を行うものである（例えば、特許文献1参照）。

【0006】

ここで、従来のアフィニティリガンドキャピラリー電気泳動では、塩基配列を特異的に認識するアフィニティリガンドとして、被検体DNAの塩基配列と相補的関係の1本鎖を使うが、ポリヌクレオチドを成分とするアフィニティリガンドは負電荷を有しているため、電圧を印加すると、このアフィニティリガンドがキャピラリー外に流出してしまう。これを防ぐため、従来では、アフィニティリガンドである、前記被検体DNAの塩基配列と相補的関係の1本鎖を、キャピラリー内に固定化している。そして、固定化の方法としては、ビニル化DNAをポリアクリルアミドと共に重合し、それをキャピラリー内壁に共有結合

合的に固定化するものが提案されている。これにより、前記被検体DNAは、アフィニティリガンドである固定的オリゴヌクレオチドと強く相互作用してキャピラリー内に吸着され、一方ノイズDNAは該固定的オリゴヌクレオチドに吸着されずキャピラリー外に流出され、この結果、前記被検体DNAを検出することが可能となる（特許文献1参照）。

【0007】

しかしながら、この方法では、アフィニティリガンドがキャピラリー内壁にしかコーティングできないので、アフィニティリガンドと試料との相互作用が壁面近傍に限られ、測定が難しく、且つ測定精度が悪くなるという問題がある。

【0008】

そこで、本出願人は、アフィニティリガンドと試料との相互作用が壁面近傍に限られないように、該アフィニティリガンドをキャピラリー内で擬似的に固定する方法を開発し、例えば、それぞれに電極を配置した第1容器と第2容器間を、リニアポリマーとDNA結合制御剤とを含む緩衝液を充たしたキャピラリー管で連絡し、次いで、このキャピラリー管の緩衝液の中に、該DNA試料に含まれる検出対象である目的DNAに水素結合可能な塩基配列を結合したリニアポリマーからなる分離用DNAコンジュゲートを充填した後、続いて被検体であるDNA試料を充填し、その後、両電極間に電圧を印加して、キャピラリー管内の被検体DNA試料を電気泳動させることで、該DNA試料を分離する遺伝子診断装置と遺伝子診断方法を提案している（特許文献2参照）。

【0009】

以下、アフィニティリガンドをキャピラリー内で擬似的に固定する方法について説明すると、DNAは二重鎖を形成するものと一重鎖を形成するものと存在するが、DNAのもつA, T, C, G 4つの塩基は互いにAとT、GとCが結合し易くなっているが、DNAの二重鎖においてもAT, GCで対をなしている。従って、一方のDNAが5' -ATCGCGT-3' と配列されている場合、他方のDNAは3' -TAGCGCA-5' という塩基配列をもっている。

【0010】

DNAサンプルを分離する分離用DNAコンジュゲートは、前述したようなDNAの相補的関係を利用するため、該分離用DNAコンジュゲートのDNA部分に、DNAサンプルのミュータントDNAと相補的関係をもつDNA配列を与えており。例えば、DNAサンプルの検出対象である目的DNAのDNA配列が5' -ATCGCGT-3' を含み、ワイルドDNAが5' -ATCACGT-3' を含む場合、下線で示した部分でミュータントDNAとワイルドDNAの塩基が異なっている。このとき、分離用DNAコンジュゲートのDNA部分の配列を3' -TAGCGCA-5' とすると、ワイルドDNAは下線部においてDNAコンジュゲートと相補的ではなくなる。これにより、全体の結合力はミュータントDNAの方がワイルドDNAより1塩基分大きくなり、電気泳動時にミュータントDNAの方がワイルドDNAより遅延して泳動される。

【0011】

DNAサンプルは血液などから、細胞を破壊してDNAを抽出し、PCRなどによって目的のDNA配列を含む部分を増幅する。このとき、所定の塩基数にして増幅すると相補的配列を持つDNAコンジュゲートの塩基数も決定できる。

【0012】

前述した方法によれば、負に帯電した分離用DNAコンジュゲートとDNA試料とを、電気泳動で第2容器から第1容器へ移動させる際に、アフィニティリガンドと被DNA検体との相互作用が壁面近傍に限られないように擬似的に固定し、そのDNA試料の移動速度差から、該ワイルドDNAとミュータントDNAとを分離することができ、この結果、SNPsの遺伝子異常を短時間、且つ簡単、正確に判別することが可能になる。

【0013】

一方、タンパク質は、細胞、組織、生体液中に存在し、生体活動の調節、細胞へのエネルギー供給、重要な物質の合成、生物構造体の維持、さらには細胞間でのコミュニケーションや細胞内情報伝達に関与している。現在では、タンパク質が様々な環境や、相互作用

する他のタンパク質の存在、タンパク質が受けた修飾の程度や種類に応じて、複数の機能を有することが明らかになってきている。

【0014】

ここで、L-アミノ酸が多数連結（重合）してできた高分子化合物がタンパク質であり、生体の重要な構成成分のひとつである。このアミノ酸の配列をタンパク質の一次構造とよぶが、この配列は遺伝子(DNA)の配列により決定される（3つの塩基配列により、1つのアミノ酸が指定される）。ペプチド結合してタンパク質の構成成分となった単位アミノ酸部分(−NH−CH(−R−)−CO−)をアミノ酸残基と呼ぶが、それぞれのRによってその性質が異なる。この残基の相互作用によって α ヘリックス（らせん）構造や β シート構造などの二次構造をとり、さらにはタンパク質全体としての三次構造をとることになる。タンパク質の機能は、前記三次構造（立体構造）によって決定される。これは、同じアミノ酸の配列からなるタンパク質でも、立体構造（畳まれ方）によって機能が変わるということである。たとえば、BSEの原因となるプリオントンは、正常なプリオントンとは立体構造が違うだけである。現在タンパク質の立体構造と機能についての研究が進められているが、いずれ、ほしい機能にあわせてタンパク質の立体構造を設計し、合成できるようになるだろうと考えられている。

【0015】

タンパク質は、20種類のアミノ酸が遺伝子の指示（配列情報）により順番につながることでつくられており、その種類は数千万種と言われるが、その遺伝子の配列がわかれば、どのアミノ酸がどういう順番でつながってできているかの情報を得ることができる。生物の遺伝子（ゲノム）から作られるタンパク質の一そろいのセットは、プロテオームと呼ばれるが、ヒトゲノムの塩基配列解読が終わった今、プロテオームの解析が盛んに進められている。

【0016】

そして、このようなタンパク質の機能解析研究としては、同定やキャラクタリゼーションのみならず、生化学アッセイやタンパク質間相互作用研究、タンパク質ネットワーク、または細胞内外のシグナリング解明などもしていく必要がある。このタンパク質機能の研究には、多方面の技術が使用され、酵素アッセイ、酵母 two-hybrid アッセイ、クロマトグラフィーによる精製、情報ツールとデータベース等があるが、特に、電気泳動によるたんぱく質の判別は重要な手法である。そして、電気泳動のように、キャピラリー管中のサンプル、分析物、緩衝剤、及び試薬等の液体を移動させた際に得られる輸送反応を検出して、該サンプルの分析、判別、判定等を行う場合の前記液体の輸送及び方向付けに関しては、さまざまな報告がある（例えば、特許文献3～特許文献6）。

【特許文献1】特開平7-311198号公報

【特許文献2】特開2002-340859号公報

【特許文献3】特表2000-513813号公報

【特許文献4】特表2001-523341号公報

【特許文献5】特開2000-514928号公報

【特許文献6】特表2003-28883号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0017】

しかし、前述した特許文献2の遺伝子診断装置と診断方法においては、リニアポリマーとDNA結合制御剤とを含む緩衝液を充たしたキャピラリー管に、分離用DNAコンジュゲートとDNA試料とを充填する必要がある。このように、キャピラリー管1本1本に、分離用DNAコンジュゲートとDNA試料を充填するのは面倒な作業であり、また分離用DNAコンジュゲートとDNA試料を充填する際に、それらの量がキャピラリー管間で異なれば、測定結果にも影響が及ぼされる可能性があった。

【0018】

さらに、試料の分離を行うのに、例えば特許文献5、6に記載の方法では、複数のキャ

ビラリーチャンネルを交差させ、且つ少なくとも3つ電極を設けて、該少なくとも3つ設けられた電極のうちの2つの電極に印加して、前記交差部を通して前記試料を移動させていはるが、この方法では、流路が交差していることから、試料を電気泳動させる際にうまく泳動しない可能性があり、正確な測定結果が得られないという問題がある。また、例えば特許文献3、4に記載の方法では、プラットホームに微細チャンネルを埋設し、該プラットホームの回転速度を変化させることで、該回転から生じる向心力を変化させて試料を移動させているが、この方法では、試料を向心方向にしか移動させることができないという問題に加え、該微小チャンネルの形状がかなり複雑であるという問題もある。

【0019】

本発明は、流路に充填された緩衝剤中で生体サンプルを移動させた際の輸送反応の検出時に、煩雑な準備作業が不要で、短時間で正確な検出結果の得られる、小型で軽量、且つ安価な生体サンプル判別装置、生体サンプル判別方法、及び該生体サンプル判別装置で使用する生体サンプル判別装置用プレートを提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0020】

前記課題を解決するために、本発明の生体サンプル判別装置は、生体サンプルを緩衝剤中で移動させた際に得られる輸送反応を検出して、該生体サンプルの判別を行う生体サンプル判別装置において、前記緩衝剤が注入される第1の流路と、該第1の流路とその一部の流路を共通にする前記生体サンプルが注入される第2の流路とが形成されたプレートを充填ユニットで高速回転させて、前記第1の流路に前記緩衝剤を充填させると共に、前記第2の流路に前記生体サンプルを遠心分布させ、該生体サンプルが遠心分布された状態の第2の流路を検出ユニットで加圧して、該第2の流路に前記生体サンプルを充填させ、前記プレートを前記充填ユニットで高速回転させて、前記第2の流路に充填された生体サンプルのうちの一定量を前記第1の流路に充填された緩衝剤中に添加した後、前記緩衝剤中を移動する前記生体サンプルの輸送反応を検出するものである。

これにより、生体サンプル判別装置を小型且つ軽量で、安価にすることが可能となることに加え、本装置で前記生体サンプルの判別を行えば、煩雑な準備作業が不要となり、正確な検出結果を短時間で得ることができる。

【0021】

また、本発明の生体サンプル判別装置は、前記第1の流路に充填された前記緩衝剤中を移動する前記生体サンプルの輸送反応を検出する光学検出部を備え、前記充填ユニットは、前記プレートを高速回転させる高速回転モータを備え、前記検出ユニットは、前記第2の流路を加圧する加圧部を備えるものである。

これにより、生体サンプル判別装置を小型且つ軽量で、安価にすることを実現できる。

【0022】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置は、前記プレートを上下移動させる昇降ステージを備え、当該装置の下部に前記昇降ステージを設け、該昇降ステージ上に前記充填ユニット及び前記光学検出部を設け、当該装置の上部に前記検出ユニットを設けるものである。

これにより、検出ユニットを充填ユニットの上部に設置することができるため、生体サンプル判別装置を、より小型且つ軽量で、安価にすることができる。

【0023】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置は、前記検出ユニットが、前記第1の流路の温度をサーミスタで測定し、該測定結果に応じて該第1の流路を所定の温度になるよう制御するヒータを備え、前記第1の流路を前記ヒータで所定の温度にした後、前記緩衝剤中を移動する前記生体サンプルの輸送反応を検出するものである。

これにより、当該装置において、第1の流路の温度を同じ条件にすることができるため、より正確な検出結果を得ることができる。

【0024】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置は、前記検出ユニットが、前記ヒータ及びサー

ミスターの代わりに、前記プレートに設けられたヒータ及びサーミスターに、電圧を印加するヒータ接点ピン及びサーミスター接点ピンを備えるものである。

これにより、前記装置内に設けられるヒータの代わりに、プレート上に設けられたヒータに電圧を印加するヒータ接点ピンにすることができるため、検出ユニットをコンパクトにして、当該装置をより小型化、軽量化且つ安価にすることが可能となる。

【0025】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置は、前記ヒータを、前記第1の流路上に配置し、前記サーミスターを、該ヒータから、前記第1の流路と前記ヒータ間の距離だけ離れた位置に配置するものである。

これにより、前記サーミスターで前記ヒータにより加熱された第1の流路の温度をより実温度に近い値で測定することができ、前記第1の流路を誤差なく所定の温度にすることを実現できる。

【0026】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置は、前記サーミスターを、前記第1の流路上に配置し、前記ヒータを、該サーミスターから、前記第1の流路と前記サーミスター間の距離だけ離れた位置に配置するものである。

これにより、前記サーミスターで前記第1の流路の正確な温度を知ることができ、前記第1の流路を誤差なく所定の温度にことができる。

【0027】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置は、前記検出ユニットは、前記プレートに設けられた嵌合ピン孔に挿入される嵌合ピンと、該検出ユニットを低速回転させる低速回転モータと、を備え、該嵌合ピンで前記プレートを当該検出ユニットに嵌合して固定した後、該検出ユニットと共に前記プレートを前記低速回転モータで低速回転させ、該プレートの低速回転中に、前記光学検出部で前記緩衝剤中を移動する前記生体サンプルの輸送反応を検出するものである。

これにより、前記プレートと前記検出ユニットとを一体で低速回転用モータにより低速回転させて、前記第1の流路を光学検出部によりスキャンでき、より正確な生体サンプルの検出結果を得ることができる。

【0028】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置は、前記検出ユニットが、前記プレートに設けられた位置決めマークを検出する位置決めマーク検出センサを備え、該位置決めマーク検出センサで前記プレートの嵌合ピン孔を検出して、該プレートの位置決めをした後、該嵌合ピン孔に前記嵌合ピンを挿入するものである。

これにより、検出ユニットとプレートとを確実に嵌合させることができる。

【0029】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置は、前記検出ユニットが、正電極、負電極を備え、前記プレートを前記充填ユニットで高速回転させて、前記第2の流路に充填された生体サンプルのうちの一定量を前記第1の流路に充填された緩衝剤中に添加した後、前記第1の流路中に前記正電極及び負電極を挿入して、該正電極と負電極間に電圧を印加し、前記緩衝剤中に添加された前記生体サンプルを、電気泳動によって移動させ、該緩衝材中を移動する前記生体サンプルの輸送反応を検出するものである。

これにより、前記第1の流路に充填された緩衝剤に添加された生体サンプルを、電気泳動により移動させることができ、より短時間で検出結果を得ることができる。

【0030】

加えて、本発明の生体サンプル判別装置は、前記プレートに、前記正電極、負電極を洗浄する洗浄領域を設け、前記検出ユニットは、前記正電極、負電極を前記洗浄領域で洗浄した後、該正電極と負電極を前記第1の流路に挿入するものである。

これにより、保管時などに正電極、負電極に付着したごみ等の異物を洗い流すことができ、より正確な検出結果を得ることができる。

【0031】

加えて、本発明の生体サンプル判別装置は、前記検出ユニットは、前記正電極及び負電極の代わりに、前記プレートに設けられた正電極及び負電極に、電圧を印加する2本の電極接点ピンを備えるものである。

これにより、前記装置内の検出ユニットに設けられる電極の代わりに、プレートに設けられた電極に電圧を印加する電極接点ピンにすることができるため、検出ユニットをさらにコンパクトにして、当該装置をさらに小型化、軽量化且つ安価にすることが可能となる。

【0032】

加えて、本発明の生体サンプル判別装置は、前記生体サンプルが、DNAサンプルであり、前記緩衝剤は、該DNAサンプルに含まれる検出対象である目的DNAに水素結合可能な塩基配列を結合したリニアポリマーからなる分離用DNAコンジュゲートと、DNA結合制御剤とを含むものである。

これにより、当該装置において、DNAサンプルのSNPsを判別することができる。

【0033】

加えて、本発明の生体サンプル判別装置は、前記検出ユニットに備えられている各構成要素が、当該装置上部に設けた天井板からバネを介して懸架されるものである。

これにより、前記生体サンプルの光学検出時に、前記プレートと前記検出ユニットの各構成要素とを、確実に接触させることができる。

【0034】

また、本発明の生体サンプル判別装置は、当該装置内の上昇した温度を冷却する冷却ファンを設け、該冷却ファンの空気取り入れ口に、当該装置外部から入射される光を遮断する光遮断部を設けるものである。

これにより、装置内に光を入射させることなく、装置内外で空気を循環させることができ、装置内を冷却することができる。

【0035】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置は、前記光遮断部が、多孔質膜からなるものである。

【0036】

さらに、前記光遮断部が、L字形状もしくはクランク形状の邪魔板からなるものである。

これにより、当該装置内に光を入射させることなく、装置内外で空気を循環させて、装置内を冷却できる。

【0037】

また、本発明の生体サンプル判別装置は、前記昇降ステージ上に、前記プレートとの距離を測定する距離測定部を備え、前記光学検出部に設けられた該光学検出部の高さを調整する高さ調整部で、前記距離測定部の測定結果が一定になるよう調整するものである。

これにより、光学検出部とプレート間の距離を常に一定に保つことが可能となり、当該装置においてより正確な結果を得ることができる。

【0038】

加えて、本発明の生体サンプル判別装置は、前記高さ調整部が、アクチュエータであるものである。

これにより、光学検出部とプレート間の距離を常に一定に保つことを実現できる。

【0039】

本発明の生体サンプル判別方法は、生体サンプルを緩衝剤中で移動させた際に得られる輸送反応を検出して、該生体サンプルの判別を行う生体サンプル判別方法において、前記緩衝剤が注入される第1の流路と、該第1の流路とその一部の流路を共通にする前記生体サンプルが注入される第2の流路とが形成されたプレートを高速回転させて、該第1の流路に前記緩衝剤を充填させると共に、該第2の流路に前記生体サンプルを遠心分布させ、前記生体サンプルが遠心分布された状態の第2の流路を加圧して、該第2の流路に前記生体サンプルを充填させ、前記プレートを高速回転させて、前記第2の流路に充填された前

記生体サンプルのうちの一定量を前記第1の流路に充填された緩衝剤中に添加して、前記第1の流路を一定温度にした後、該第1の流路に充填された緩衝剤中を移動する前記生体サンプルの輸送反応を検出するものである。

これにより、前記生体サンプル判別装置を、小型且つ軽量で、安価にすることが可能となる。また、本方法で前記生体サンプルの判別を行えば、煩雑な準備作業が不要で、正確且つ短時間に判別できる効果がある。

【0040】

本発明の生体サンプル判別装置用プレートは、生体サンプルを電気泳動により緩衝剤中で移動させた際に得られる輸送反応を検出して、該生体サンプルの判別を行うための流路パターンを有する生体サンプル判別装置用プレートであって、前記流路パターンは、前記緩衝剤がその一部に注入され、当該生体サンプル判別装置用プレートを高速回転させると該緩衝剤が充填される第1の流路と、前記生体サンプルがその一部に注入され、当該生体サンプル判別装置用プレートを高速回転させると該生体サンプルが遠心分布され、加圧されると該生体サンプルが充填される、前記第1の流路とその流路の一部を共通にする第2の流路と、前記第1の流路の一部に設けられ、負電極、正電極が挿入される第1、第2の電極挿入部と、を備えるものである。

これにより、緩衝剤を流路パターン中に気泡を含むことなく容易に短時間で充填でき、また、該充填された緩衝剤中に一定量の生体サンプルを添加して、確実に電気泳動させることができる。

【0041】

また、本発明の生体サンプル判別装置用プレートは、前記第1の流路は、当該生体サンプル判別装置用プレートの中心を円心とした円の円周方向に伸びる弧状流路の内周側である内周流路と、外周側にある外周流路と、該内周流路と外周流路のそれぞれの両端を接続する前記円心から放射方向に伸びる放射流路とで周回形状を有する流路からなり、前記第2の流路は、前記内周流路と前記外周流路間に位置する前記弧状流路と、その弧状流路一部に設けられたコの字形状の流路と、からなり、前記接触部は、前記外周流路の一部と、前記第2の流路の前記コの字形状を有する流路の一部とが平行に接してなるものである。

これにより、当該プレートに形成される流路パターンを単純な構成にし、前記第1の流路に緩衝剤を気泡を含むことなく容易に短時間で充填でき、また、前記第1の流路及び第2の流路の一部流路を共通にしているため、該充填された緩衝剤中に一定量の生体サンプルを添加することができ、該生体サンプルを緩衝材中で確実に電気泳動させることができる。

【0042】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置用プレートは、前記第1、第2の電極挿入部が、前記第1の流路の前記放射流路の一部に設けられるものである。

これにより、当該生体サンプル判別装置用プレートを高速回転させて第1の流路に該高速回転により生じる外周側への遠心力によって緩衝剤を充填する際に、第1、第2の電極挿入部の内部に気泡が含まれないようにすることができる。

【0043】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置用プレートは、前記第1の流路の前記内周流路のほぼ中央に、前記緩衝剤を注入する第1のサンプル注入部を設けるものである。

これにより、前記緩衝剤が第1のサンプル注入部に注入されると、該緩衝剤は、前記内周流路の中央から両端に2つに分岐されて第1の流路を移動していくこととなり、この結果、当該生体サンプル判別装置用プレートを高速回転させて第1の流路に該高速回転により生じる外周側への遠心力によって緩衝剤を充填する際に気泡を含むのを防止できる。

【0044】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置用プレートは、前記緩衝剤を第1の流路に充填させた際、該緩衝剤は、前記第1の流路のうちの、前記外周流路及び前記第1、第2の電極挿入部に充填されるものである。

これにより、前記第1の流路に充填された緩衝剤中に生体サンプルを添加して電気泳動

させた際の吸光度あるいは蛍光度を、生体サンプル判別装置の光学検出部において確実に測定することができる。

【0045】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置用プレートは、前記内周流路の前記弧状流路は、該流路が円弧上から前記外周流路側にすこしづれた楕円円弧上にあるものである。

これにより、緩衝剤を第1の流路に充填させる際に、途中で該緩衝剤が流れていかなかったり、気泡をかんだりすることを、生体サンプル判別装置用プレートの高速回転により生じる遠心力によって防止することができる。

【0046】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置用プレートは、前記内周流路の流路幅が、前記外周流路の流路幅より広いものである。

これにより、第1の流路にサンプルを注入されてから第1、第2の電極挿入部に緩衝剤を短時間で移動させて、気泡の抜けを良くできることに加え、該緩衝剤の充填処理時間を短くできる効果がある。

【0047】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置用プレートは、前記外周流路が、前記第1の電極挿入部から前記接触部までの流路の長さと、前記第2の電極挿入部から該接触部までの流路の長さとの差を調整する流路長調整部を有するものである。

これにより、第1、第2の電極挿入部から、前記接触部の間の距離を調整して、前記第1の電極挿入部から前記接触部までの流路の長さと、前記第2の電極挿入部から該接触部までの流路の長さをほぼ同じ長さにすることことができ、外周流路に気泡が発生するのを防ぐことができる。

【0048】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置用プレートは、前記第2の流路の一端に、前記生体サンプルを注入する第2のサンプル注入口を設け、そのもう一端に、前記第2の流路に前記生体サンプルを充填する際に、前記第2のサンプル注入口から移動した生体サンプルを保持するサンプルプールを設けるものである。

これにより、第2の流路に圧を加えることによって生体サンプルを確実に充填でき、且つ、該第2の流路に充填された生体サンプルを、遠心力により定量して緩衝剤中に添加することができる。

【0049】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置用プレートは、前記第1の流路の上部に、該第1の流路を加熱するヒータ及び該第1の流路の温度を測定するサーミスタを設け、前記第1、第2の電極挿入部中に、正電極及び負電極を設けるものである。

これにより、当該プレートを装着する生体サンプル判別装置を、より小型化、軽量化できる効果がある。

【0050】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置用プレートは、前記第1、第2の電極挿入部が、空気孔を有するものである。

これにより、第1、第2の電極挿入部に設けられた空気孔により空気抜きができるため、外周流路に緩衝剤を遠心力によって充填する際に、気泡が含まれるのを防ぐことができる。

【0051】

加えて、本発明の生体サンプル判別装置用プレートは、前記サンプルプールが、空気孔を有するものである。

これにより、前記サンプルプールに設けられた空気孔により空気抜きができるため、第2の流路に生体サンプルを圧を加えることによって充填する際に、気泡が含まれるのを防ぐことができる。

【0052】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置用プレートは、前記生体サンプルはDNAサン

プルであり、前記緩衝剤は、該DNAサンプルに含まれる異常DNAに水素結合可能な塩基配列を結合したリニアポリマーからなる分離用DNAコンジュゲートと、DNA結合制御剤とを含むものである。

これにより、当該生体サンプル判別装置用プレートにおいて、DNAサンプルのSNPsを判別することができる。

【0053】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置用プレートは、前記第1、第2の電極挿入部に、前記正電極、負電極を挿入するための電極挿入孔を設け、該電極挿入孔には、カバーフィルムを貼るものである。

これにより、当該生体サンプル判別装置用プレートを高速回転させて、第1の流路に緩衝剤を充填する際に、該電極挿入孔から緩衝剤がこぼれないようにすることができる。

【0054】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置用プレートは、当該生体サンプル判別装置用プレート上に、前記流路パターンを複数個形成するものである。

これにより、1回の測定で多くの検出結果を得ることができる。

【0055】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置用プレートは、当該生体サンプル判別装置用プレートに、前記正電極、負電極を洗浄する洗浄領域を設け、前記正電極、負電極を前記洗浄領域で洗浄した後、該正電極と負電極を前記第1の流路に挿入するものである。

これにより、測定開始前等に、前記正電極、負電極に付着したごみ等の異物を洗い流すことができ、より正確な検出結果を得ることができる。

【発明の効果】

【0056】

本発明の生体サンプル判別装置によれば、当該装置内の下部に、流路の一部が共通している第1、第2の流路が形成されたプレートを、当該装置内で上下移動させる昇降ステージを設け、該昇降ステージ上に、遠心力により前記第1の流路中に緩衝剤を充填させ、且つ前記第2の流路中に生体サンプルを遠心分布させる充填ユニット、及び該第1の流路に充填された緩衝材中を移動する生体サンプルの輸送反応を検出する光学検出部を設け、さらに該装置内の上部に、前記第2の流路に遠心分布された生体サンプルを加圧により該第2の流路に充填する検出ユニットを設けるようにしたので、当該生体サンプル判別装置を小型化、軽量化し、且つ安価にすることができる。

【0057】

また、本発明の生体サンプル判別装置によれば、前記充填ユニットの高速回転による遠心力によって、前記緩衝剤を前記第1の流路に充填させて、該緩衝剤に一定量の前記生体サンプルを添加した後、前記充填ユニットを低速回転させて、前記プレートを所定回数回転させることで、前記光学検出部により前記第1の流路を所定回数スキャンさせて、前記第1の流路の吸光度、あるいは蛍光度を検出するようにしたので、正確な検出結果を短時間で得ることが可能となる。

【0058】

また、本発明の生体サンプル判別装置によれば、前記検出ユニットに、正電極及び負電極を備え、前記第1の流路中に該正電極及び負電極を挿入して、該正電極と負電極間に電圧を印加し、前記第1の流路に充填された緩衝剤中に添加された前記生体サンプルを、電気泳動によって移動させるようにしたので、前記第1の流路中に充填された緩衝材中に添加された生体サンプルを電気泳動により移動させて、その輸送反応を短時間で検出することが可能となる。

【0059】

また、本発明の生体サンプル判別装置によれば、前記昇降ステージ上に、前記プレートとの距離を測定する距離測定部を備え、前記光学検出部に設けられた該光学検出部の高さを調整する高さ調整部で、前記距離測定部の測定結果が一定になるよう調整するようにしたので、より正確な検出結果を得ることができる。

【0060】

さらに、当該装置に注入される生体サンプルがDNAサンプルで、緩衝剤が該DNAサンプルに含まれる検出対象である目的DNAに水素結合可能な塩基配列を結合したリニアポリマーからなる分離用DNAコンジュゲートと、DNA結合制御剤を含むものである場合は、細胞や血液等から特定のDNAを取り出したDNAサンプル中に含まれる検出対象である目的DNAの存在を、煩雑な準備作業が必要なキャピラリー管を使うことなく、正確且つ短時間に判別することが可能となるため、種々の病気の判別やDNA異常の研究を正確且つ迅速に行える。

【0061】

また、本発明の生体サンプル判別方法によれば、前記緩衝剤が注入される第1の流路と、該第1の流路とその一部の流路を共通にする前記生体サンプルが注入される第2の流路とが形成されたプレートを高速回転させて、該第1の流路に前記緩衝剤を充填させると共に、該第2の流路に前記生体サンプルを遠心分布させ、前記生体サンプルが遠心分布された状態の第2の流路を加圧して、該第2の流路に前記生体サンプルを充填させ、前記プレートを高速回転させて、前記第2の流路に充填された前記生体サンプルのうちの一定量を前記第1の流路に充填された緩衝剤中に添加して、前記第1の流路を一定温度にした後、該第1の流路に充填された緩衝剤中を移動する前記生体サンプルの輸送反応を検出するので、一定量のDNAサンプルを定量して、緩衝材中に添加可能となるため、正確な検出結果を短時間で得ることが可能となる。また、生体サンプル判別装置についても、煩雑な準備作業が不要で、且つ、小型で軽量、さらに安価にすることが可能となる。

【0062】

また、本発明の生体サンプル判別装置用プレートによれば、当該生体サンプル判別装置用プレートに形成される流路パターンとして、緩衝剤がその一部に注入され、当該プレートを高速回転させると該緩衝剤が充填される第1の流路と、前記生体サンプルがその一部に注入され、当該プレートを高速回転させると該生体サンプルが遠心分布され、加圧されると該生体サンプルが充填され、前記第1の流路とその流路の一部を共通にする第2の流路と、前記第1の流路の一部に設けられ、負電極、正電極が挿入される第1、第2の電極挿入部と、を備えるようにしたので、生体サンプル判別装置によって、分離用DNAコンジュゲートを流路パターン中に気泡を含むことなく容易に短時間で充填でき、また、前記第1の流路の一部と第2の流路の一部とを共通にするようにしているため、該分離用DNAコンジュゲート中に一定量のDNAサンプルを添加することができ、この結果、該生体サンプルを緩衝材中で確実に電気泳動させることができる。

【0063】

また、本発明の生体サンプル判別装置用プレートによれば、前記第1の流路が、当該生体サンプル判別装置用プレートの中心を円心とした円の円周方向に伸びる弧状流路の内周側である内周流路と、外周側にある外周流路と、該内周流路と外周流路のそれぞれの両端を接続する前記円心から放射方向に伸びる放射流路とで周回形状を有する流路からなり、前記第2の流路が、前記内周流路と前記外周流路間に位置する前記弧状流路と、その弧状流路一部に設けられたコの字形状の流路と、からなり、前記接触部は、前記外周流路の一部と、前記第2の流路の前記コの字形状を有する流路の一部とが平行に接してなるようにしたので、当該プレートに形成される流路パターンを単純な構成にし、前記第1の流路に緩衝剤を気泡を含むことなく容易に短時間で充填でき、また、該充填された緩衝剤中に一定量の生体サンプルを添加して、確実に電気泳動させることができる。

【0064】

また、本発明の生体サンプル判別装置用プレートによれば、当該プレートに複数の流路パターンを形成するようにしたので、該各流路パターンを、同一の人間の生体サンプルでなく、多数の異なる人間の生体サンプルの判別に利用したり、あるいは、当該プレートに形成された流路パターンの数分の異なる人間の生体サンプルを、該各流路パターンそれぞれに注入すれば、1回の測定で判別が多人数に対して可能となる。

【0065】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置用プレートによれば、当該プレート上に、前記流路パターンに加えて、サーミスタ、ヒータを設け、さらに当該プレートの前記正電極、負電極を挿入する電極挿入部中に、正電極及び負電極を設けるようにしたので、生体サンプル判別装置側に、サーミスタ、ヒータ、電極を設ける必要がなくなり、該生体サンプル判別装置の装置規模を小さくすることができる。

【0066】

また、本発明の生体サンプル用プレートによれば、当該プレート上に、前記流路パターンに加えて、該流路パターンに挿入される正電極、負電極を洗浄する洗浄領域を設けるようにしたので、測定開始前等に、前記正電極、負電極に付着したごみ等の異物を洗い流すことができ、より正確な検出結果を得ることができる。

【0067】

さらに、本発明の生体サンプル判別装置用プレートによれば、前記生体サンプルがDNAサンプルであり、前記緩衝剤は、該DNAサンプルに含まれる異常DNAに水素結合可能な塩基配列を結合したリニアポリマーからなる分離用DNAコンジュゲートと、DNA結合制御剤とを含むものであるようにしたので、当該生体サンプル判別装置用プレートにおいて、DNAサンプルのSNPsを判別することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0068】

(実施の形態1)

以下、図1～図14を用いて、本実施の形態1における生体サンプル判別装置について説明する。

本発明は、生体サンプルを緩衝剤中で移動させて、生物学的、酵素的、免疫学的、及び化学的アッセイを行う生体サンプル判別装置の小型化、軽量化、及び安価化を実現するものである。

【0069】

なお、本実施の形態1では、説明を具体的にするために、前記生体サンプルがDNAサンプルで、前記緩衝剤が分離用DNAコンジュゲート及びDNA結合制御剤を含むものであるとし、本生体サンプル判別装置が、流路中に充填させた分離用DNAコンジュゲート中に、定量された前記DNAサンプルを添加して電気泳動させ、該流路中の蛍光度あるいは吸光度を検出して、該DNAサンプルのSNPs(一塩基多型)の有無を判別するものとする。

【0070】

まず、図1～図5を用いて、本実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置100の構成について説明する。図1は、本実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の構成図である。

【0071】

図1に示すように、本実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置100は、上下動モータ51が内蔵され、該モータ51により上下移動する昇降ステージ50と、前記プレート10に形成されたパターン110に含まれる流路に遠心力によって前記分離用DNAコンジュゲートを充填し、該分離用DNAコンジュゲートが充填された流路中に遠心力によってDNAサンプルを定量して添加する充填ユニット20と、前記分離用DNAコンジュゲート中を移動する前記DNAサンプルの蛍光度あるいは吸光度を検出する光学検出部40と、プレート10に対して加圧、加熱、電圧印加を行い、該プレート10を前記光学検出部40に対して回転させる検出ユニット30と、本装置100の動作を制御する制御基板68とを備える。

【0072】

そして、前記充填ユニット20には、前記プレート10を高速回転させる高速回転モータ21と、前記プレート10を保持し、その一部が当該装置100内に固定され、該筐体60に設けられた扉61を介して、当該装置100の内部から外部へあるいは外部から内部へ移動する、プレートトレイ22と、測定開始前にプレートの有無を確認するプレート

確認センサ23とが備えられ、また前記検出ユニット30には、プレート10と該検出ユニット30とを固定する嵌合ピン31と、前記プレート10に形成された流路に電圧を印加する2本の電極32a, 32bと、該流路を一定の温度に保つヒータ33と、該流路に注入されたDNAサンプルを加圧して流路の一部に充填させる加圧部34と、前記プレート10と検出ユニット30とを固定する際の位置決めを行う位置決めマーク検出センサ35と、前記プレート10を保持するクランパ36、及びプレート10に設けられた流路の温度を検出するサーミスタ39とが設けられた天井板37と、該天井板37を低速回転させる低速回転モータ38と、が備えられている。

【0073】

なお、本実施の形態1の生体サンプル判別装置100では、当該装置100の下部に昇降ステージ50が配置され、該昇降ステージ50上に充填ユニット20と光学検出部40とが配置され、さらに該昇降ステージ50の上方に検出ユニット30が配置されており、よりコンパクトな構成となっている。

【0074】

そして、前記クランパ36はクランパ支えを介して、またヒータ33はヒータ支えを介して天井板37に設けられており、また前記天井板37に設けられた嵌合ピン31、電極32a, 32b、ヒータ33、加圧部34、クランパ36、及びサーミスタ39には、プレート10に対して適度なテンションを与えるバネが設けられて、該バネによりプレート10に押し付けられるように構成されており、さらに前記加圧部34は、加圧ポンプ部52にポンプチューブ53を介して接続されている。

【0075】

そして、前記ヒータ33には、ヒータの温度を検出するヒータ温度検出センサ55が設けられ、装置100内には、該装置内の温度を検出する装置内温度検出センサ54が設けられている。

【0076】

さらに、本生体サンプル判別装置100には、前記検出ユニット30の加圧部34に接続されている加圧ポンプ52、高圧電源66、装置電源67、当該装置のon, off状態を切り換える電源スイッチ62、該電源スイッチ62がON状態の際に点灯するLED63、装置100内を冷却する冷却ファン64、及び装置100を振動から守り、高さ調節可能なゴム脚65a, 65bが備えられている。

【0077】

ここで、前記装置100に設けられる冷却ファン64は、外部の空気を内部に取り込むか、内部の上昇した空気を外部に逃がして冷却を行う。しかし、本生体サンプル判別装置100は、光学検出部40においてプレート上の光の強度を検出して検出結果を得るものであるため、装置100内部に光が侵入しないようにしなければならない。そこで、本実施の形態1では、冷却ファン64に光遮断部を設けて、空気は通して光は通さないようにしている。前記光遮断部の1つ目の例としては、冷却ファン64が取り付けられる筐体60の内側に、図2(a)に示すような、光を遮断するが空気は十分通過可能なクランク形状もしくはL字形状を有する邪魔板69aを設けることが考えられ、また、2つ目の例としては、冷却ファン64が取り付けられる筐体60の内側に、図2(b)に示すような、光は透過しないが空気は透過させるフィルタ69bを設けることが考えられる。なお、前記フィルタ69bの材料としては、多孔質のフィルムを数枚重ねたり、微小な細孔を連通管で接続していく多孔質構造の材料が例として挙げられる。

【0078】

次に、図3～図4を用いて、プレート10の構成について説明する。

図3(a)は本実施の形態1におけるプレートの下面、図3(b)はプレートの上面、図3(c)はプレートのA-A断面を示す図であり、図4はプレートに形成されたパターンの詳細な形状を示す図である。

【0079】

図3(a)に示すように、本実施の形態1におけるプレート10はその中央に開口部1

0 a、そして、図1に示す本生体サンプル判別装置100内の天井板37に設けられた嵌合ピン31の挿入先である嵌合ピン孔11が設けられ、そして該プレート10の下面には、分離用DNAコンジュゲート中でDNAサンプルを移動させるためのパターン110、及び前記プレート確認センサ23により検出されるプレート確認マーク13が設けられており、また、該プレート10の上面には、図3 (b) に示すように、前記位置決めマーク検出センサ35により検出される位置決めマーク12、及びサンプルを注入するサンプル注入入口、各電極32a, 32bを挿入する電極挿入口や空気孔などが設けられている。また、前記プレート10の下面には、図3 (c) に示すように、プレート10に形成された前記パターン110をふさぐようにキャピラリーシール14が張られ、そして、該プレート10の上面には、前記電極挿入口のみをふさぐようにカバーフィルム15が張られている。なお、前記キャピラリーシール14については、光学検出部40により流路の吸光度、あるいは蛍光度を測定する必要があるため透明であるのがよい。

【0080】

以下、図4を用いてより詳細に説明すると、前記パターン110は、DNAサンプルを分離させる分離用DNAコンジュゲートが注入される第1のサンプル注入部113と、DNAサンプルが注入される第2のサンプル注入部114と、該第2のサンプル注入部114に注入されたDNAサンプルの移動先であるサンプルプール115と、負電極を挿入する第1の電極挿入部111と、正電極を挿入する第2の電極挿入部112と、これらを接続する流路とからなる。そして前記流路は、第1のサンプル注入部113と第1の電極挿入部111間、及び第1のサンプル注入部113と第2の電極挿入部112間を接続するプレートの内周側の流路である内周流路116aと、該第1の電極挿入部111と第2の電極挿入部112間を接続する流路である外周流路116bとからなる第1の流路116と、前記第2の電極挿入部112とサンプルプール115を接続し、前記第1の流路116とその一部の流路を共通にする第2の流路117とからなり、DNAサンプルと分離用DNAコンジュゲートとを水素結合反応させた後の、前記外周流路116bの一部である泳動流路の吸光度、あるいは蛍光度を前記光学検出部40により測定することで、定量添加されたDNAサンプルのSNPsの有無を判別する。ここで、光学検出部40により泳動流路の蛍光度を検出する場合には、泳動流路の深さが深すぎると蛍光度が検出されにくいため、流路の幅を広くして深さを浅くするのが好ましく、例えば幅300μm、深さ50μmの流路が例に挙げられる。一方、光学検出部40により泳動流路の吸光度を検出する場合には、泳動流路の深さが浅すぎると吸光度が検出されにくいため、適度な深さがあることが好ましく、例えば、幅300μm、深さ300μmの流路が例に挙げられる。

【0081】

さらに、前記パターン110には、測定時でないときに電極32a, 32bを待機させるための第1, 第2の電極待機孔118, 119が、第1, 第2の電極挿入部111, 112の同心円上に設けられ、また、プレート10上には加圧部34による加圧時でないときに該加圧部34を待機させるための加圧待機孔136が、第2のサンプル注入口114の同心円上に設けられている。さらに、前記第1, 第2の電極挿入部111, 112には電極32a, 32bを挿入する電極挿入口121, 122、及び空気孔131, 132が設けられ、また、第1, 第2のサンプル注入部113, 114にはサンプル注入口123, 124が設けられ、さらに、サンプルプール115には空気孔135が設けられている。

【0082】

以下、前述したような構成を有する本実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置100の動作について、図5～図12を参照しながら説明する。

【0083】

(ステップS1) まず、シリンジによる手作業で、図6 (a) に示すように、プレート10に設けられたパターン110の第1のサンプル注入部113に、サンプル注入口123から分離用DNAコンジュゲートを注入し、また、第2のサンプル注入部114に、サンプル注入口124からDNAサンプルを注入する。

【0084】

ここで、前記第1のサンプル注入部113に注入される分離用DNAコンジュゲートの作成方法の一例を示す。まず、DNAサンプルの塩基配列に相補的な塩基配列を有するDNAの5'末端をアミノ化（通常は、ヘキシル基を介してアミノ化）し、2.6 mMになるように滅菌した超純水を加えて希釈する。次いで、MOSU（メタクリロイドオキシスクシンイミド）を71.388 mMになるようにDMSO（デイメチルスルオキシド）で希釈する。そして、このようにして得たアミノ化DNAとMOSUを1:50の比率になるように加えて調整する。そしてこの後さらに、前記調整溶液に対して、pH調整用としてpH9になるように炭酸水素ナトリウムと水酸化ナトリウムで調整した溶液を、アミノ化DNAの量と等量加える。以上のようにして得られた溶液を一晩振とうし、その後、HPLC（High Performance Liquid Chromatography：高速液体クロマトグラフィー）を使用して、振とうした溶液中のビニル化DNAを、アミノ化DNA、MOSU、その他と分離する。ビニル化DNAは溶離液（TEAA；トリエチルアミノ-酢酸とアセトニトリルの混合溶液）を含んでいるため、さらに真空乾燥機能を持った遠心エバポレーターで減圧濃縮する。次いで、重合溶液である10%のAAM（アクリルアミド）を53 μmol窒素置換する。さらに、重合開始剤である1.34%のTEMED（N, N, N', N' - テトラメチルエチレンジアミン）を超音波で脱気した滅菌超純水で希釈する。これを重合開始剤である1.34%のAPS（過硫酸アンモニウム）と同じく超音波で脱気した滅菌超純水で希釈する。さらに濃縮したビニル化DNAを滅菌した超純水で希釈する。そして、100 μlの分離用DNAコンジュゲートを合成するために、前記のAAMを34 μl、前記のTEMEDとAPSを各々5 μl、ビニル化DNAがAAMに対して0.01%モル～0.05%モルになるように加え、100 μlになるように滅菌超純水を追加して、60分程度放置しておくとアクリルアミド化された分離用DNAコンジュゲートが得られる。

【0085】

（ステップS2）前記ステップS1において、前述の分離用DNAコンジュゲート等を注入した後、本装置100の電源スイッチ62をON状態にし、操作ボタン（図示せず）等を操作して、筐体60中から扉61を介してプレートトレイ22を引き出し、該プレートトレイ22上に、サンプル注入されたプレート10をセットした後、再度操作ボタンを操作して、該プレートトレイ22を筐体60内に引き込ませるプレートローディングを行う。このステップS2の動作によりプレートトレイ22が引き込まれると、プレート10は、該プレート10の開口部10aが高速回転モータ21のプレート受け部21aに嵌まる位置に自動的にセットされる。この状態の昇降ステージ50の位置を最下点とする。

【0086】

（ステップS3）前述したようにプレート10が生体サンプル判別装置100内にローディングされると同時に、昇降ステージ50は、上下動モータ51によって、前記最下点から、プレート10がクランバ36に保持される位置である第1段目の位置まで上昇する。なお、このとき、昇降ステージ50と共に、光学検出部40、高速回転モータ21、プレート確認センサ23、及び該高速回転モータ21のプレート受け部21aに嵌まっているプレート10は上昇するが、プレートトレイ22は装置に固定されているため、移動しない。

【0087】

図7(a)は、本実施の形態1の生体サンプル判別装置の昇降ステージが、前記第1段目の位置まで上昇したときの状態を示す図である。

【0088】

以下、前記プレート10がクランバ36に保持される状態になるまでの動きを詳細に示すと、まず、プレート10が生体サンプル判別装置100内にローディングされると同時に、昇降ステージ50は上下動モータ51によって最下点から上昇を開始して、図1に示すように、高速回転モータ21のプレート受け部21aにプレート10の開口部10aが嵌まり込む。そしてこの後、昇降ステージ50が更に上昇して、前記プレート10は高速

回転モータ21と一体化して上昇する。そして、昇降ステージ50がある位置まで上昇すると、該プレート10の上方にあるクランバ36の下面に設けられた磁石と、高速回転モータ21の金属で形成されたプレート受け部21aとが接続され、これによりプレート10がクランバ36に保持される。このように接続された時点で昇降ステージ50は停止し、この停止位置が、昇降ステージ50の第1段目の位置である。前記昇降ステージ50の第1段目の位置は、例えば、該昇降ステージ50の最下点から8mm上昇した位置である。

【0089】

(ステップS4～ステップS5) そして、前記昇降ステージ50が、前述したようにして第1段目の位置に移動した後、この第1段目の位置において、充填ユニット20により、第1の流路116に遠心力で分離用DNAコンジュゲートを充填する充填処理を行うのだが、このとき、該充填処理を行う前に、まずプレート10が当該装置内にあるか否かを確認する。

【0090】

このプレート10の有無の確認は、前記プレート確認センサ23で、プレート10下面に設けられたプレート確認マーク13を検出することにより行う。ここで、前記プレート10のプレート確認マーク13は、切り欠きやマーク等からなるものあり、例えば、ここではアルミテープをはる。そして、高速回転モータ21によってプレート10が回転される時に、反射型のフォトセンサ等であるプレート確認センサ23でプレート10の下面を測定する。このとき、プレート確認センサ23では、プレート確認マーク13であるアルミテープと、該アルミテープ以外の部分で図8に示すような出力信号の差が生じるため、出力信号に立ち上がりと立ち下がりがあればプレート10が存在し、一方、出力信号に立ち上がりと立ち下がりがなければプレート10が存在しないと判断する。

【0091】

そして、プレート確認センサ23でプレート10が無いと判断されれば、この時点で動作を中止し、一方、プレート10が有ると判断されれば、高速回転モータ21を予め決められた回転数、ここでは約4000rpmで、約2分間高速回転させて、当該流路中の第1の流路116に分離用DNAコンジュゲートを充填させる。

【0092】

以下、図6(a)～(c)を用いて、パターン110中に分離用DNAコンジュゲートが充填されていく様子を説明する。

【0093】

まず、プレート10が前記高速回転モータ21によって高速回転されると、図6(a)に示すように、パターン110中の第1のサンプル注入部113に注入された分離用DNAコンジュゲートが、該高速回転によって生じる遠心力により、図6(b)に示すように、前記第1のサンプル注入部113から、第1の流路116の内周流路116aを移動して、それぞれ第1、第2の電極挿入部111、112に到達する。そしてさらに、図6(c)に示すように、該第1、第2の電極挿入部111、112から、第1の流路116の外周流路116bを移動して、最終的に第1、第2の電極挿入部111、112と該外周流路116bに充填される。ここで、前述したコンジュゲート充填処理において、第1の流路116の内周流路116a側にコンジュゲートが充填されないようにするには、前記第1、第2の電極挿入部111、112に電極を挿入して電圧を印加した際に、内周流路116a側で電気泳動が行うことのないようにするためである。従って、前記ステップS1において、分離用DNAコンジュゲートを第1のサンプル注入部113に注入する際には、コンジュゲート充填処理後に分離用DNAコンジュゲートが内周流路116aに残らない程度の量を注入するのが好ましい。

【0094】

一方、第2のサンプル注入部114に注入されたDNAサンプルは、前述したような充填ユニット20によるコンジュゲート充填処理中に、第2の流路117を円周方向に移動して、第2の流路117中に遠心分布される。このとき、前記第2のサンプル注入部11

4に注入される前記DNAサンプルの量が多ければ、充填ユニット20でプレート10を高速回転させることで生じる遠心力によって、第1の流路116の外周流路116bに分離用DNAコンジュゲートが充填される前に、DNAサンプルが第2の流路117に充填されて、該外周流路116bにDNAサンプルが流れてしまうこととなる。従って、前記第2のサンプル注入部114に注入するDNAサンプルの量は、遠心力によって前記外周流路116bにまで達しない量、つまり、図6(b), (c)に示すように第2の流路117の途中で移動が止まる量を注入するようとする。

【0095】

ここで、プレート10上に設けられたパターン110の形状の特徴について、図9を参照しながら詳細に説明する。

DNAサンプルを、プレート10に設けられたパターン110の、外周流路116bの一部である泳動流路Cで電気泳動させて、正確な検出結果を得るために、前記外周流路116b中に気泡がかまないようにする必要がある。従って、本実施の形態1のパターン110には、分離用DNAコンジュゲート及びDNAサンプルを注入及び充填する際、あるいはDNAサンプルを定量する際、あるいは分離用DNAコンジュゲートに対して定量されたDNAサンプルを添加する際に、外周流路116b中に気泡が含まれないように様々な工夫がされている。

【0096】

以下、具体的に述べると、まず、本パターン110の1つ目の特徴は、第1のサンプル注入部113の形状と、その配置されている位置にある。本実施の形態1においては、図9に示すように第1のサンプル注入部113の出口を2つに分岐させて、分離用DNAコンジュゲートが内周流路116aの両サイドに分岐して移動するようしている。これにより、分離用DNAコンジュゲートが該第1のサンプル注入部113に注入されると、プレートの高速回転により生じる外周側への遠心力によって、該分離用DNAコンジュゲートが、該第1のサンプル注入部113の出口で2つに枝分かれして内周流路116aの両端に向かって移動し、第1, 第2の電極挿入部111, 112を通過して、外周流路116bの両端から充填されていくため、該外周流路116b中に分離用DNAコンジュゲートを、気泡を含むことなく確実に充填させることができる。さらに、前記第1のサンプル注入部113を前記のような形状にすれば、前記第1, 第2の電極挿入部111, 112及び外周流路116bに分離用DNAコンジュゲートを充填するために、該分離用DNAコンジュゲートの注入を両サイド別々に行う必要がなくなり、別々に注入したときには必要であった分離用DNAコンジュゲートの注入のタイミングや量の制御をする必要がなくなり、加えてそれらを制御していたことにより生じていた誤差もなくすことができる。また、図9に示すように、第1のサンプル注入部113を内周流路116aの中央に設けているので、分離用DNAコンジュゲートを外周流路116bに充填させる際、第1の流路116に対して分離用DNAコンジュゲートが偏って注入等されることを防ぎ、この偏った注入により外周流路116b中に気泡が発生するのを防止することができる。

【0097】

2つ目の特徴は、第1, 第2の電極挿入部111, 112の配置位置にある。本実施の形態1においては、図9に示すように、各電極挿入部111, 112を、第1の流路116の放射方向の一部に設けて、プレートの高速回転により生じる外周側への遠心力によって分離用DNAコンジュゲートを充填する際に、該各電極挿入部111, 112の内部に気泡が含まれないようにしている。例えば、前記各電極挿入部111, 112が第1の流路116の円周方向の一部に設けられているとすると、第1の流路116に注入された液は遠心力によって放射方向に移動していくため、前記各電極挿入部内部に気泡が生じる可能性がある。

【0098】

3つ目の特徴は、第1, 第2の流路116, 117の各コーナーRの大きさにある。実施の形態1においては、パターン110の第1, 第2の流路116, 117のコーナーRがすべて0.5以上であるように構成されており、こうすることで、プレートの回転によ

り生じる外周側への遠心力によって分離用DNAコンジュゲートを充填する際に、該第1, 第2の流路116, 117のすべての角の部分に気泡が含まれないようにすることができる。

【0099】

4つ目の特徴は、内周流路116a形状にある。本実施の形態1の内周流路116aは、図9に示すように、同心円弧状に形成されているのではなく、第1の電極挿入部113から遠ざかるにつれて、外周側にずれるように橢円円弧状に形成されている。これにより、分離用DNAコンジュゲートを第1の流路116に充填する際に、途中で該分離用DNAコンジュゲートが流れていかなかったり、気泡をかんだりすることを、プレートの高速回転により生じる遠心力によって防止することができる。さらに、内周流路116aの流路幅を、外周流路116bに比べて大きくしているので、第1のサンプル注入部113から第1, 第2の電極挿入部111, 112に分離用DNAコンジュゲートを短時間で移動させて、気泡の抜けを良くできることに加え、分離用DNAコンジュゲートの充填処理時間を短くできる効果もある。

【0100】

5つ目の特徴は、第2の流路117のA部分の形状にある。本実施の形態1においては、第2の流路117のA部分は、第2の流路117の一部が外周流路116bの一部の流路と共通になっており、外周流路116bに充填された分離用DNAコンジュゲートと、一定量のDNAサンプルとが接するサンプル接触部に相当する。本実施の形態1においては、DNAサンプルが分離用DNAコンジュゲートに接触する該サンプル接触部を、図9に示すように、プレートの放射方向部分と円周方向部分とからなる略コの字形状にし、該コの字形状の円周方向部分において、分離用DNAコンジュゲートと一定量のDNAサンプルを、平行に接触させるようにしている。さらに、本実施の形態1においては、第2の流路117のうち、サンプルプール115と前記サンプル接触部間の流路を短くしているので、プレートの高速回転によるDNAサンプルの定量添加処理の際に、サンプルプール115に分離用DNAコンジュゲートが流れ込むのを防止でき、また、第2の流路117に生じた気泡の抜けを良くすることができる。

【0101】

6つ目の特徴は、外周流路116bのB部分の形状にある。本実施の形態1においては、図9に示すように、外周流路116bのB部分に折部を設けて、外周流路116bの両端からの流路の長さ調整をしている。例えば、外周流路116bの、各電極挿入部111, 112から前記サンプル接触部までの長さが極端に違うと、外周流路116bに気泡が発生する可能性がある。

【0102】

7つ目の特徴は、第1, 第2の電極挿入部111, 112及びサンプルプール115に、それぞれ空気孔を設けていることにある。第1のサンプル注入部113に注入された分離用DNAコンジュゲートは、第1, 第2の電極挿入部111, 112に設けられた空気孔131, 132により空気抜きができるため、外周流路116bに高速回転による遠心力によって気泡をかむことなく充填でき、また、加圧部34による加圧処理によって第2の流路116bに充填されたDNAサンプルは、前記サンプルプール115に設けられた空気孔135により空気抜きができるため、高速回転による遠心力によって分離用DNAコンジュゲートに対して定量添加することができる。

【0103】

8つ目の特徴は、図3(c)に示すように、第1、第2の電極挿入部111, 112の電極挿入口121, 122にカバーフィルム15が貼られていることにある。このようにすることにより、コンジュゲート充填処理においてプレートを高速回転させる際に、分離用DNAコンジュゲートが飛び散って、分離用DNAコンジュゲートが足りなくなり、外周流路116bに分離用DNAコンジュゲートが充填されなくなることを防止できる。なお、第1, 第2のサンプル注入部113, 114のサンプル注入口123, 124に、カバーフィルム15を貼る必要はない。その理由は、第1, 第2のサンプル注入部113,

114のサンプル注入部123, 124が、図4に示すようにプレートの内周側に設けられているため、プレートを高速回転させると遠心力により各サンプルがプレートの外周側に移動するため、各サンプル注入部から各サンプルが飛び散ることがないためである。

【0104】

(ステップS6) 前述したステップS5において、以上のような特徴を有するプレート10に各サンプルを注入し、充填ユニット20によるコンジュゲートの充填動作が終了後、昇降ステージ50は、前記プレート10と検出ユニット30とを嵌合させるために更に上昇する。ただし、前記検出ユニット30とプレート10とを嵌合させるためには、該検出ユニット30の嵌合ピン31を、プレート10の嵌合ピン孔11に挿入する必要があるため、プレート10の嵌合ピン孔11の位置を検出するため、プレート10の位置決めする必要がある。

【0105】

そこで、本実施の形態1においては、図3(a)に示すようにプレート10の上面に位置決めマーク12を設けておき、位置決めマーク検出センサ35により該位置決めマーク12を検出して、検出ユニット30とプレート10とを嵌合できる位置を決定する。なお、充填ユニット20の高速回転モータ21がサーボタイプのモータであれば、コンジュゲート充填処理における高速回転後のプレート10の位置が限定できるため、プレート10の位置決めを行う必要はない。

【0106】

この検出ユニット30による嵌合位置の検出方法は、前述ステップS4の動作と同様で、反射型センサー等である低速回転モータ38によって検出ユニット30を回転させる際に、位置決めマーク検出センサ35でプレート10の上面を測定すると、位置決めマーク12であるマーク部と該マーク以外とで図8に示すような出力信号の差が生じるため、この立ち上がり立下りに注目して、検出ユニット30の位置決めを行う。ここで、検出ユニット30を低速回転モータ38により回転させて位置決めを行う時には、検出ユニット30は多くの構成要素が天井板37に設けられて、該検出ユニット30周辺にそれらのケーブル、チューブ類が束ねられて存在するため(図示せず)、前記ケーブル、チューブ類がからまないように、右・左方向へ半回転から3/4回転ほど順次回転して位置を検出した後、回転角度が少ない方向に回転して検出ユニット30の位置決めを行うようにする。

【0107】

(ステップS7) 以上のようにして、検出ユニット30を位置決めした後、前記プレート10と検出ユニット30とを嵌合するために、昇降ステージ50は、上下動モータ51により、図7(a)に示す第1段目の位置から、図7(d)に示す第2段目の位置まで上昇する。

【0108】

以下、図7(b)～図7(d)を用いて、前記プレート10が検出ユニット30と嵌合するまでの状態を詳細に説明する。まず、プレート10の嵌合ピン孔11に、検出ユニット30の嵌合ピン31が挿入され始め(図7(b))、次にプレート10の第1、第2の電極挿入部111、112の電極挿入口121、122に、前記検出ユニット30の電極32a、32bが挿入され、プレート10の加圧待機孔136に加圧部34が接触した後(図7(c))、ヒータ33がプレート10と接触するまで上昇する(図7(d))。この結果、プレート10に、嵌合ピン31、電極32a、32b、加圧部34、ヒータ33、及びサーミスタ39が押し付けられる状態となり、検出ユニット30とプレート10とが嵌合された状態となる。従って、図7(d)に示すように、検出ユニット30とプレート10とが嵌合される昇降ステージ50の位置が、第2段目の位置となる。該昇降ステージ50の第2段目の位置は、例えば図7(a)に示す第1段目の位置から6.8mm上昇した位置である。

【0109】

そして、昇降ステージ50が第2段目の位置まで上昇して、プレート10と検出ユニット30の各構成要素とが嵌合された後、サーミスタ39で外周流路116bの温度を測定

して、該測定結果に応じてヒータ33を制御しながら、外周流路116bの温度を所定の温度に保つようとする。ここで、外周流路116bの温度を所定の温度にする理由は、光学検出部40にて検出を行う際に、その温度条件を一定にする必要があるためであり、この所定の温度としては、室温より高い一定温度であればよい。そして、前記所定の温度は、充填させる分離用DNAコンジュゲートや、該分離用DNAコンジュゲートに添加するDNAサンプルに応じて決定されるものであり、例えばDNAサンプルが40-60塩基で、なお且つ、検出対象である目的DNAと相補的関係をもつ配列を有する分離用DNAコンジュゲートのDNA配列が6-8塩基の場合、25度~45度が好ましい。そして、この外周流路116bの温度制御は、天井板37に設けられたサーミスタ39により行う。

【0110】

このときの外周流路116bに対する、ヒータ33及びサーミスタ39の設置位置は、例えば、図10(a)に示すように、ヒータ33を外周流路116bの真上に、またサーミスタ39をヒータ33の横で、且つ図中の距離A、Bが同じになる位置に配置し、ヒータ33を外周流路116bの真上に押し当てて加熱を無駄なく行い、サーミスタ39によりプレート10の温度を測定して、その測定結果より外周流路116bの温度を推測して、ヒータ33の制御を行うものであってもよいし、図10(b)に示すように、ヒータ33を外周流路116bの横で、且つ図中の距離A、Bが同じになる位置に、またサーミスタ39を該外周流路116bの真上に配置して、サーミスタ39により外周流路116bの正確な温度を測定しながら、ヒータ33の制御をするようにしてもよい。さらに、ヒータ33上に設けられたヒータ温度検出センサ(図示せず)においてヒータの温度上昇を測定していき、予めヒータ33からプレート10への熱伝達量を測定しておき、プレート10とヒータ33との温度差を測定して外周流路116bの温度制御を行うようにしてもよい。

【0111】

(ステップS8) 以上のようにヒータ33を制御して、外周流路116bを所定の温度にした後、前記高圧電源66より供給された電圧を、天井板37に設けられた電極32a、32bに印加して、分離用DNAコンジュゲート精製処理を行う。このとき、外周流路116bへの印加電圧としては、約0.5KVから5KV程度が考えられるが、好ましくは1KVから1.5KVである。なお、前記ステップS7において分離用DNAコンジュゲートに対して電圧を印加し、分離用DNAコンジュゲート精製処理をするのは、分離用DNAコンジュゲートを作成する際に生じた不具合(分離用DNAコンジュゲート中に含まれる未反応のDNAや分子量の小さいコンジュゲート)を除去し、純粋な分離用DNAコンジュゲートを得るためにある。そして、この時除去された未反応のDNAや分子量の小さいコンジュゲートは、正電極が挿入される第2の電極挿入部112まで移動して、保持される。

【0112】

(ステップS9~ステップS12) 前述したコンジュゲート精製処理の終了後、検出ユニット30の加圧部34で加圧処理を行うことによって、DNAサンプルを第2の流路117に充填させる。

【0113】

この加圧処理は、前記加圧部34を、第2のサンプル注入部114のサンプル注入口124に接触させ、該サンプル注入口124から第2のサンプル注入部114に保持されたDNAサンプルに圧力をかけることにより行う。

【0114】

そこで、本実施の形態1においては、前記加圧部34の位置を、現在位置する加圧待機孔136上から、サンプル注入口124上にもってくるために、一度昇降ステージ50を第2段目の位置から第1段目の位置に下降させ、低速回転モータ38により検出ユニット30をすこし回転、ここでは約10度回転させた後、昇降ステージ50を第2段目の位置に上昇させる。このようにすれば、昇降ステージ50を第2段目の位置に上昇させて加圧

処理を行う際に、前記加圧部34を第2のサンプル注入部114のサンプル注入口124に接触させることができる。なおこのとき、前記電極32a, 32bも同時に回転するため、該電極32a, 32bは、第1, 第2の電極挿入部111, 112と同心円上に設けられた第1, 第2の電極待機孔118, 119に挿入して待機させる。

【0115】

そして、前記電極32a, 32bを第1, 第2の電極待機孔118, 119に待機させた状態で、加圧部34によって、DNAサンプルが保持されている第2のサンプル注入部114を加圧する。

【0116】

この加圧により、図6(b), (c)に示すように、前記ステップS5の分離用DNAコンジュゲートの充填では、第2の電極挿入部112から第2の流路117の円周方向にしか遠心分布されなかつたDNAサンプルを、図6(d)に示すように、該第2の流路117の放射方向に移動させ、その一部をサンプルプール115まで移動させて、DNAサンプルを第2の流路117に充填させることができる。

【0117】

そして前記ステップS12による加圧処理の後、上下動モータ51により、昇降ステージ50を第2段目の位置から第1段目の位置に下降させ(ステップS13)、充填ユニット20により、前記分離用DNAコンジュゲートが充填されている外周流路116bの一部に遠心力によって一定量のDNAサンプルを添加する(ステップS14)。

【0118】

具体的には、高速回転モータ21でプレート10を所定の回転数、ここでは約4000 rpmでおよそ10秒回転させることで、図6(d)に示すように第2のサンプル注入部114とサンプルプール115間の第2の流路117に充填されていたDNAサンプルを、高速回転により生じる遠心力によって、図6(e)に示すように外周流路116bに充填された分離用DNAコンジュゲートと接する部分のみだけ残すようにする。このようにすることで、一定量のDNAサンプルを、外周流路116bに充填された分離用DNAコンジュゲートに添加することが可能となる。なお、このときの高速回転において、前記ステップS8のコンジュゲート精製処理において破れたカバーフィルム15から、分離用DNAコンジュゲートが飛び散ることはない。この理由は、この時点での分離用DNAコンジュゲートは図6(d)に示されるように第1, 第2の電極挿入部111, 112の外周側の一部に充填されているのみであるから、この状態で高速回転モータ21によりプレート10を高速回転させても、分離用DNAコンジュゲートは遠心力により移動することはないからである。

【0119】

以上に記載したDNAサンプルの移動状態を、図11中の(1)～(4)に示した。図11中の(1)は分離用DNAコンジュゲートの充填処理終了後の状態で、分離用DNAコンジュゲートが充填されている領域にはDNAサンプルは無く、第2の流路117の途中で移動が止まり、生体サンプルは第2の流路に遠心分布された状態にある。そしてこの後、加圧部34による加圧処理がなされると、図11中の(2)に示すように、第2の流路117に遠心分布された状態のDNAサンプルが、図11中の(3)に示すように、サンプルプール115まで移動して、DNAサンプルが第2の流路117に充填される。そしてこの後、高速回転モータ21によりプレート10を高速回転させると、図11中の(4)の状態となり、一定量のDNAサンプルが分離用DNAコンジュゲートに平行に接して、添加された状態となる。

【0120】

(ステップS15)この後、検出ユニット30による測定動作を行うために、上下動モータ51によって、昇降ステージ50を第1段目の位置から第2段目の位置に上昇させる必要があるが、このとき、前記ステップS7の処理と同様にして、前記プレート10の上面に設けられた位置決めマーク12を、位置決めマーク検出センサ35により検出して、プレート10の位置決めを行う。この際の具体的な動作については、前述したステップS

6の動作と同様であるため説明は省略する。

【0121】

(ステップS16～ステップS17) プレート10の位置決めの後、上下動モータ51により昇降ステージ50を第2段目の位置まで上昇させて、天井板37の嵌合ピン31をプレート10の嵌合ピン孔11に挿入して、天井板37とプレート10とを嵌合させた後、ヒータ33により外周流路116bを所定の温度に加熱し、高圧電源66により供給された電圧を電極32a, 32bに印加させて、DNAサンプルを、分離用DNAコンジュゲートが充填された外周流路116b中で電気泳動させ、その外周流路116bの吸光度、あるいは蛍光度を光学検出部40により検出する光学検出処理を行う。

【0122】

このときのDNAサンプルの状態を、図11中の(5)～(8)に示した。図11中の(5)～(8)は電圧印加が開始され、DNAサンプルが外周流路116bに充填された分離用DNAコンジュゲート中を電気泳動していく様子を示している。このように、DNAサンプルを分離用DNAコンジュゲート中に攪拌混合させず、分離用DNAコンジュゲートと平行に接触させたたけでも、外周流路116bに対して電圧を印加してやれば、DNAサンプルは分離用DNAコンジュゲートの内部を電気泳動によって移動していく。

【0123】

光学検出部40による吸光度、あるいは蛍光度の検出は、天井板37と嵌合状態のプレート10を、昇降ステージ50上の光学検出部40に対して、低速回転モータ38で回転させることで、外周流路116bの泳動流路Cの部分の吸光度、あるいは蛍光度を、所定時間おき、ここでは測定開始から1分経過おきに検出する。なお、測定中であることを示すために、前記電極32a, 32bに対する電圧印加と同時に、第2のLED(図示せず)を点灯させるようにすれば、測定中に誤って装置100の扉61を開けるのを防止することができる。

【0124】

具体的には、低速回転モータ38により、嵌合されたプレート10と天井板37を、約1回転させた後、逆回転して初めの位置に戻るという動作を繰り返すことで、パターン110の外周流路116bの泳動流路Cを光学検出部40によりスキャンさせ、該泳動流路Cの吸光度あるいは蛍光度を測定する。このときの光学検出部40による泳動流路Cのスキャン方向は、DNAサンプルが泳動する方向のみ行い、反対方向については行わない。

【0125】

図12は、本実施の形態1の生体サンプル判別装置において、泳動流路の吸光度を検出した場合の検出結果を示す図であり、横軸は外周流路の距離、縦軸は吸光度を示している。ここでは、10mMのTris-Borate緩衝液にDNA結合制御剤として0.5mMの塩化マグネシウムを添加した溶液と分離用DNAコンジュゲート(コンジュゲート5'-TAACGGT-3')とを混合した溶液を外周流路132に充填し、該外周流路132にミュータントDNA(5'-ATGTGGAACCTTACTAAAG-3')とワイルドDNA(5'-ATGTGGAACCGTTACTAAAG-3')とを含む標識したDNAサンプルを注入して、外周流路116bの泳動流路C中を電気泳動させた。

【0126】

DNAサンプル中にミュータントDNAが含まれていれば、該ミュータントDNAは、図13に示すように、該ミュータントDNAと相補関係をもつ配列を有する分離用DNAコンジュゲートに捕捉されてワイルドDNAより泳動速度が遅くなり、この結果、光学検出部40において泳動流路Cの吸光度を検出した際には、図12に示すようにワイルドDNAとミュータントDNAとが分離された状態となり、吸光度のピークが2つ現れる。一方、DNAサンプルにミュータントDNAが含まれていなければ、吸光度のピークは一つしか現れない。これにより、DNAサンプルにミュータントDNAが含まれているか否かを判別することが可能となる。

【0127】

ここで、本実施の形態1の生体サンプル判別装置において、プレート10を低速回転モ

ータ38で回転させず、外周流路116bの泳動流路Cのある一点における吸光度を測定することも可能である。しかし、ここでは、前記泳動流路Cの一点において測定するのではなく、プレート10を低速回転モータ38で低速回転させ、光学検出部40で該泳動流路C全体をスキャンして、泳動流路C全体の吸光度を所定の時間経過おきに測定するようしている。この理由は、例えば、測定対象のDNAサンプルが、吸光度が測定されない位置では該DNAサンプルに含まれるワイルドDNAとミュータントDNAとに速度差があり、吸光度が測定される位置で前記速度差がなくなってしまうような場合があるからである。このように、光学検出部40で泳動流路C全体を所定時間経過毎にスキャンして、蛍光度あるいは吸光度を測定するようにすれば、常に正確な結果を得ることができる。

【0128】

(ステップS18) 前述のようにして、外周流路116bを光学検出部40により任意の回数、ここでは9回スキャンして、測定が終了すると、高圧電源66による電極32a, 32bの電圧印加を停止し、ヒータ33の加熱も停止して、プレート10がプレートトレイ22上に保持できる位置になるように、低速回転モータ38で、プレート10を天井板37と共に回転させる。

【0129】

(ステップS19) そして、前記位置が決定後、上下動モータ51により昇降ステージ50を、第2段目の位置から第1段目の位置まで下降させ、その位置においてクランバ36とプレート受け部21aとを解離させた後、さらに最下点に下降させて、プレート10をプレートトレイ22上に保持させる。この時点で、プレート10が当該生体サンプル判別装置100より排出できる状態となる。

【0130】

以上のように、本実施の形態1によれば、生体サンプル判別装置100の充填ユニット20により遠心力を用いて外周流路116bにDNAコンジュゲートを充填させ、且つDNAサンプルを加圧して遠心力により該分離用DNAコンジュゲートに定量添加した後、検出ユニット30に設けられた電極32a, 32bに電圧を印加して電気泳動させ、該検出ユニット30によりプレート10を所定時間毎に数回低速回転させると、光学検出部40により外周流路116bの泳動流路部分全体を所定回数スキャンさせて、泳動流路部分の吸光度、あるいは蛍光度を測定するようにしたので、細胞や血液等から特定のDNAを取り出したDNAサンプル中に含まれる検出対象である目的DNAの存在を、煩雑な準備作業が必要なキャピラリー管を使うことなく正確且つ短時間に判別することが可能となるため、種々の病気の判別やDNA異常の研究を正確且つ迅速に行える。

【0131】

また、本実施の形態1の生体サンプル判別装置100によれば、昇降ステージ50を上下動モータ51によって第1段目の位置と第2段目の位置との間を移動させることでプレート10を上下に移動させ、第1段目の位置では充填ユニット20によるサンプルの充填処理を行い、第2段目の位置では、検出ユニット30による光学検出処理を行うようにしたので、生体サンプル判別装置を小型化して、軽量化することが可能となる。

【0132】

なお、本実施の形態1においては、生体サンプルがDNAサンプルであり、該DNAサンプルにミュータントサンプルが含まれているか否かを判別する場合を例に挙げて説明したが、本装置はこのような使用に限られるものではなく、抗原抗体反応や、酵素反応にも応用が可能である。

【0133】

また、本実施の形態1においては、プレート10にパターン110が1つ形成されているとして説明したが、図14に示すように、プレート10に同じパターンを4つ形成するようにしてもよい。この場合、天井板37に設けられた電極32a, 32b、ヒータ33、加圧部34、サーミスタ39が各々4つづつ必要となる。さらに、前記のようにプレート10上に4つのパターンを設けるようにした場合には、検出ユニット30にて測定動作を行う際に、各パターン110における測定のタイムラグ分を考慮して、高圧電源66に

より各パターンに挿入される電極32a, 32bに対する電圧の印加を、パターン毎にずらすようする。このようにすることにより、測定時のデータの電気泳動時間を、すべてのパターンで同一にすることが出来る。なお、測定する繰り返し回数は、使用者の要求によって設定が可能である。

【0134】

また、図14に示すように、プレート10に複数のパターンを形成する場合には、該各流路を同一の人間のSNPsでなく、多数の異なる人間のSNPsの判別に利用することができる。例えば、すべてのパターンに同一のDNAコンジュゲートを充填しておいて、プレートに形成されたパターンの数分の異なる人間のDNAサンプルを、該パターンそれに注入すれば、1回の測定で同一のSNPsの判別が多人数に対して可能となり、SNPs毎の分布状況に関する情報を一度に入手できる。

【0135】

なお、本実施の形態1においては、プレート10の外周流路116bを所定の温度に制御するために、ヒータ33を設けて該外周流路116を一定の温度になるよう加熱するようしたが、前記外周流路116bが一定の温度になればよいため、例えば前記ヒータ33の代わりにペルチェ素子等を設けるようにし、該外周流路116bの温度に応じて、冷却したり加熱したりして、一定の温度になるよう制御するものであってもよい。

【0136】

また、本実施の形態1においては、ステップS7において第1のサンプル注入部113に注入された分離用DNAコンジュゲートの精製処理を行う場合について説明したが、該分離用DNAコンジュゲートの作成時に精製処理まで行った後、第1のサンプル注入部113に注入するようにしてもよい。このように、分離用DNAコンジュゲートの作成時に、未反応のビニル化DNAを除去するなどの精製処理まで行う場合は、セロファンなどの透析膜の内部に、作成した分離用DNAコンジュゲートを入れて密封し、大量の超純水の中で透析膜を回転させて、内部の未反応DNAを除去する。これにより、純度の高いDNAコンジュゲートが得られる。

【0137】

そしてこのように分離用DNAコンジュゲートの作成時に精製処理まで行った場合は、検出ユニット30によるコンジュゲート精製処理を行う必要がないため、ステップS6において検出ユニット30でプレート10の嵌合位置の検出後、ステップS10に移行する。

【0138】

さらに、本実施の形態1においては、電気泳動により生体サンプルであるDNAサンプルが緩衝剤である分離用DNAコンジュゲート中を移動する場合を例に挙げ、検出ユニット30に電極32a, 32bを、またプレート10上に該電極を挿入する電極挿入部111, 112を設けるものとして説明したが、電気泳動により移動させない場合は、検出ユニット30の電極32a, 32b、及びプレート10上の電極挿入部111, 112、電極待機孔118, 119が必要ないことはいうまでもない。

【0139】

(実施の形態2)

以下、図15～図18を用いて、本実施の形態2にかかる生体サンプル判別装置について説明する。

前記実施の形態1の生体サンプル判別装置においては、プレートに設けられた流路中の流路を加熱するヒータと、該流路の温度を測定するサーミスタを、検出ユニット30の天井板から吊り下げるようにして設けるようにしたが、本実施の形態2においては、前記ヒータ、あるいはサーミスタをプレート上に設けるようにしたものである。

【0140】

まず、図15～図16を用いて、本実施の形態2にかかる生体サンプル判別装置200の構成について説明する。図15は、本実施の形態2にかかる生体サンプル判別装置の構成図である。

【0141】

図15に示すように、本実施の形態2にかかる生体サンプル判別装置200は、検出ユニット30に設けられていたヒータ33の代わりに、プレート10に対して所定の電圧を印加するヒータ接点ピン233を設け、また、検出ユニット30に設けられていたサーミスタ39の代わりに、プレート10に対して所定の電圧を印加するサーミスタ接点ピン239を設けた。そのほかの構成は、前記実施の形態1と同様であるため、ここでは説明を省略する。

【0142】

そして、図16は本実施の形態2にかかるプレートの断面を示す図であるが、本実施の形態2にかかるプレート10には、図16に示すように、外周流路116b上に、ヒータの代わりとなる熱線あるいは回路（ここでは、ヒータ電極薄膜）141、及びサーミスタ142が埋め込まれ、前記生体サンプル判別装置200の検出ユニット30に設けられたヒータ接点ピン233、及びサーミスタ接点ピン239が、前記ヒータ電極薄膜141、及びサーミスタ142に接触して電圧を印加することで、ヒータ電極薄膜141は前記外周流路116bを所定の温度に加熱し、サーミスタ142は、該外周流路116bの温度を測定してヒータ電極薄膜141に印加する電圧を制御する。なお、プレート10のパターン110の構成は、前記実施の形態1と同様である。

【0143】

このように、検出ユニット30に設けられたサーミスタ、及びヒータを、プレート10に設けるようにし、前記検出ユニット30には、サーミスタ接点ピン239、及びヒータ接点ピン233を設けて、プレート10に対して所定の電圧を印加するようにしたので、本装置200をよりコンパクトにすることができる。

【0144】

以下、前述したような構成を有する本実施の形態2にかかる生体サンプル判別装置200の動作について図5を参照しながら説明する。

【0145】

（ステップS1）まず、シリングによる手作業で、プレート10に設けられたパターン110の第1、第2のサンプル注入部113、114に、サンプル注入口123、124からそれぞれ分離用DNAコンジュゲート、DNAサンプルを注入する。

【0146】

（ステップS2）そして、操作ボタン（図示せず）等を操作して、本装置200のプレートトレイ22上に、サンプル注入されたプレート10をセットした後、プレートローディングを行う。このプレートローディングされたときの昇降ステージ50の位置を最下点とする。

【0147】

（ステップS3～ステップS5）そしてこの後、昇降ステージ50は、上下動モータ51により第1段目の位置まで上昇し、その第1段目の位置で、高速回転モータ21によるコンジュゲート充填処理が行われる。このコンジュゲート充填処理については前記実施の形態1で説明したのと同様であるため、ここでは説明を省略する。

【0148】

（ステップS6～ステップS7）前記コンジュゲート充填処理が終了後、検出ユニット30に設けられた位置決めマーク検出センサ35により、プレート10と検出ユニット30との嵌合位置を検出し、検出後に昇降ステージ50が第2段目の位置まで移動する。

【0149】

以下、前記プレート10が検出ユニット30と嵌合するまでの状態を詳細に説明すると、まず、プレート10の嵌合ピン孔11に、検出ユニット30の嵌合ピン31が挿入され始め、次にプレート10の第1、第2の電極挿入部111、112の電極挿入口121、122に、前記検出ユニット30の電極32a、32bが挿入され、プレート10の加圧待機孔136に加圧部34が接触した後、プレート10に設けられたヒータ電極薄膜141及びサーミスタ142と、検出ユニット30に設けられたヒータ接点ピン233と、サ

一ミスマタ接点ピン239とが接触するまで上昇する。この結果、プレート10に、嵌合ピン239が押し付けられる状態となり、検出ユニット30とプレート10とが嵌合される。従って、この検出ユニット30とプレート10とが嵌合される昇降ステージ50の位置が、第2段目の位置となる。

[0 1 5 0]

【0150】 そして以上のようにして、昇降ステージ50が第2段目の位置まで上昇して、プレート10と検出ユニット30の各構成要素とが嵌合された後、ヒータ接点ピン233によりプレート10に埋設されたヒータ電極薄膜141に電圧を印加し、プレート10に埋設されたヒータ電極薄膜141に電圧を印加し、プレート10に埋設されたヒータ電極薄膜141に電圧を印加したサーミスター142で外周流路116bの温度を測定してヒータ電極薄膜141に印加した電圧を制御しながら、該外周流路116bを所定の温度に加熱する。なお、前記実施の形態1において述べたように、プレート10に設けるのはヒータ電極薄膜141に限るものではなく、外周流路116bの温度を一定温度にできるものであればなんでもよい。例えれば、加熱するのみではなく、ペルチェ素子のような、冷却も加熱も可能な回路をプレート10に埋め込んでもよい。

[0 1 5 1]

(ステップS8) 以上のようにして、外周流路116bを所定の温度にした後、前記高压電源66より供給された電圧を天井板37に設けられた電極32a, 32bに印加して、分離用DNAコンジュゲート精製処理を行う。

【0 1 5 2】

（ステップS9～ステップS12）前述したコンジュゲート精製処理の終了後、検出工
ニット30により、第2のサンプル注入部114に対して加圧処理がなされ、DNAサン
プルを第2の流路117に充填させる。

[0 1 5 3]

(ステップS13～ステップS14) そしてこの後、上下動モータ51により、昇降ヘリテージ50を第2段目の位置から第1段目の位置に下降させ、充填ユニット20にて、前記分離用DNAコンジュゲートが充填されている外周流路116bの一部に、一定量のDNAサンプルを添加する定量添加動作を行う。

[0154]

(ステップS15) そして、検出ユニット30による測定動作を行うために、上下動モータ51によって、昇降ステージ50を第1段目の位置から第2段目の位置に上昇させるために、プレート10の上面に設けられたプレート確認マーク13を、位置決めマーク検出センサ35により検出して、検出ユニット30とプレート10とが嵌合可能な位置を決定する。

[0 1 5 5]

(ステップS16～ステップS17)位置決めの後、上下動モータ51により昇降ページ50を第2段目の位置まで上昇させて、天井板37と嵌合させた後、ヒータ接点ピン233によりヒータ電極薄膜141に電圧が印加されることにより外周流路116bを所定の温度に加熱し、高圧電源66により供給された電圧を電極32a, 32bに印加させて、DNAサンプルを分離用DNAコンジュゲートが充填された外周流路116b中で電気泳動させ、その外周流路116bの吸光度、あるいは蛍光度を光学検出部40により検出する光学検出処理を行う。

[0 1 5 6]

(ステップS18) 以上に示した外周流路116bを光学検出部40により任意の回数スキャンして、測定が終了すると、高圧電源66による電極32a, 32bの電圧印加を停止し、ヒータ33の加熱も停止して、プレート10がプレートトレイ22上に保持できる位置になるように、低速回転モータ38で、プレート10を天井板37と共に回転させる。

[0 1 5 7]

(ステップS19) そして、前記位置が決定後、上下動モータ51により昇降ヘリコプターの出証特2005-3012139

50を、第2段目の位置から第1段目の位置まで下降させ、その位置においてクランバ36とプレート受け部21とを解離させた後、さらに最下点に下降させて、プレート10をプレートトレイ22上に保持させる。この時点で、プレート10が当該生体サンプル判別装置200より排出できる状態となる。

[0158]

[0 1 5 9]

なお、前記説明においては、プレート10上にヒータ電極薄膜141及びサーミスター142を設ける場合を説明したが、さらに図18に示すように、プレート10の第1、第2の電極挿入部111、112中に、第1、第2の電極143a、143bを設けるようにしておいた場合、生体サンプル判別装置側では、検出ユニット30に設しても良い。このようにした場合、生体サンプル判別装置側では、検出ユニット30に設けられていた電極32a、32bの代わりに、図17に示すように、プレート10に設けられた各電極143a、143bに電圧を印加する電極接点ピン232a、232bを設けるようにすればよい。このように構成すれば、本生体サンプル判別装置200を、さらに小型化、軽量化し、且つ安価にすることができる。

[0160]

(実施の形態3)

以下、図19～図21を用いて、実施の形態3にかかる生体サンプル判別装置について説明する。

前記実施の形態 1, 2においては、コンジュゲート精製する必要がある場合、電極挿入部に電極を挿入してコンジュゲート精製処理を行ってから、次に電極挿入部に電極を挿入して光学検出処理を行うまでの間、あるいは、コンジュゲート精製する必要が無い場合は、動作開始から電極挿入部に電極を挿入して光学検出処理をするまでの間に、該電極を電極待機孔に待機させるのみであったが、本実施の形態 3においては、該電極を待機させる間に、各電極を洗浄するようにしたものである。

[0 1 6 1]

図19は、本実施の形態3におけるプレート上に設けられた第1の電極挿入部と第1の電極待機孔の構成を詳細に示す図であり、図20は、本実施の形態3における別の構成を有するプレート上に設けられた第1の電極挿入部付近を詳細に示す図であり、図21は、本実施の形態3における検出ユニットの構成を示す図である。なお、以下の説明においては、説明を簡略化するために、第1の電極挿入部のみを例に挙げて説明するが、もちろん第2の電極挿入部についても同様の構成を持たせて同時に洗浄するものである。

[0162]

[0163]

次に、2つめの方法としては、図20に示すように、プレート10の電極32が挿入される第1の電極挿入部111と同心円上であって、流路が形成されていない部分に、電極32を待機孔118の代わり、フェルトや細い起毛が一箇所に多数存在する洗浄領域16を設ける方法である。このような洗浄領域16を、プレート10上に設けるようにすれば、図5のステップS10において測定モータ38により検出ユニット30を回転させて、電極32を待機させる際に、該洗浄領域16の部分に対して、該電極32を突き刺したり、或いは突き刺した後若干の回転を加えたりすることによって、該電極32を洗浄することができる。なお、電極32を洗浄領域16に突き刺すのは、昇降ステージ50を上下させることで実現でき、洗浄領域16内で若干回転を加えるのは、低速回転モータ38により検出ユニット30を回転させることで実現できる。

【0 1 6 4】

[0165]

以上のように、本実施の形態3においては、電極32a, 32bを電極挿入部111, 112に挿入してコンジュゲート精製する必要がある場合はコンジュゲート精製をしてから次に電極32a, 32bを第1, 第2の電極挿入部111, 112に挿入するまでの間に、あるいは、コンジュゲート精製する必要が無い場合は動作開始から電極32a, 32bを第1, 第2の電極挿入部111, 112に挿入するまでの間に、該電極32a, 32bを洗浄液、あるいはプレート上に設けられたフェルト等からなる洗浄領域16で洗浄する。したので、細胞や血液等から特定のDNAを取り出したDNAサンプルを本生体サンプル判別装置において測定する際に、より正確な検出結果を得ることが可能となる。

[0166]

(実施の形態4)

以下、図22を用いて、本実施の形態4にかかる生体サンプル判別装置について説明する。

前記実施の形態においては、光学検出部を昇降ステージ上に固定し、該昇降ステージと一体で移動する構造としたが、本実施の形態4においては、前記光学検出部の高さを調整する高さ調整機構をさらに設けるようにしたのである。

[0167]

生体サンプル判別装置の光学検出部40は、プレート10から常に一定の距離を保つ必要がある。これは、測定する際に検体に対して一定の距離を保って測定しないと、光学検出部40に入光する光の量がばらつき、その結果、検出結果がばらついてしまうからである。

[0168]

ここで、前記各実施の形態においては、光学検出部40を昇降ステージ50上に設けることで、プレート10と光学検出部40とが一定の距離を保つよう構成しているが、前記プレート10は、測定時に、ヒータ33が接触したり、電極32が各電極挿入部111、112に挿入される等によって圧力を受けるため、プレート10に微妙なたわみ等が生じて、その位置が変化する可能性がある。

[01691]

そこで、このような微妙なたわみ等によるプレート位置の変化に対応するため、本実施形態4においては、昇降ステージ50上に、プレート10との距離をレーザの反射等による測定する距離測定部42を設け、また、前記光学検出部40に、前記距離測定部42

の測定結果に応じて該光学検出部40の高さを調整する高さ調整部41を設けるようとする。

【0170】

前記高さ調整部41としては、アクチュエータが考えられる。例えば、図22(a)に示されるように、マイクロメータ41aを設けたり、また図22(b)に示すように、ボイスコイルモータ41bを設けて、周囲に永久磁石で磁束を発生させ、前記距離測定部42からの測定結果に応じてボイスコイルモータ41bに流す電流の方向を変化させることで該コイル41bを上下に移動させたり、あるいは図22(c)に示すように、圧電素子41cを設け、該圧電素子41cに、前記距離測定部42からの測定結果に応じた電圧を印加して、圧電素子41cを上下に移動させたりすることが考えられる。これにより、光学検出部40とプレート10の位置を微調整し、常に一定距離を保つようにすることができる。

【0171】

以上のように、本実施の形態4によれば、昇降ステージに距離測定部42を設け、光学検出部40に、高さを調整する高さ調整部41を設けるようにしたので、前記距離測定部42の測定結果に応じて前記高さ調整部41より、前記プレート10と光学検出部40との距離を常に一定に保つことが可能となり、この結果、細胞や血液等から特定のDNAを取り出したDNAサンプルを本生体サンプル判別装置において測定する際に、極めて正確な検出結果を得ることが可能となる。

【産業上の利用可能性】

【0172】

本発明の生体サンプル判別装置は、DNAサンプル等の生体サンプルの判別を、安価で、且つ簡便に行えるようにするものとして有用である。

【図面の簡単な説明】

【0173】

【図1】本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の構成を示す図である。

【図2(a)】本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の冷却ファン周辺の構成例を示す詳細図である。

【図2(b)】本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の冷却ファン周辺の別の構成例を示す詳細図である。

【図3(a)】本発明の実施の形態1にかかるプレートの上面を示す図である。

【図3(b)】本発明の実施の形態1にかかるプレートの下面を示す図である。

【図3(c)】本発明の実施の形態1にかかるプレートのA-A断面を示す図である。

【図4】本発明の実施の形態1にかかるプレートに形成されるパターンを示す図である。

【図5】本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の一連の動作を示すフローチャートである。

【図6(a)】本発明の実施の形態1にかかるプレートに形成されたパターンに、サンプルを注入した時点の図である。

【図6(b)】本発明の実施の形態1にかかるプレートに形成されたパターンに対し、コンジュゲート充填処理を施した時点の図である。

【図6(c)】本発明の実施の形態1にかかるプレートに形成されたパターンに対し、コンジュゲート充填処理を施した後の図である。

【図6(d)】本発明の実施の形態1にかかるプレートに形成されたパターンに対し、加圧処理を施した後の図である。

【図6(e)】本発明の実施の形態1にかかるプレートに形成されたパターンに対し、定量添加処理を施した後の図である。

【図7(a)】本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の、昇降ステー

ジの第1断面の位置を示す図である。

【図7 (b)】本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の、昇降ステージが第1断面の位置から第2段目の位置に移動途中を示す図である。

【図7 (c)】本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の、昇降ステージが第1断面の位置から第2段目の位置に移動途中を示す図である。

【図7 (d)】本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の、昇降ステージの第2段目の位置を示す図である。

【図8】本実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の、プレート合わせ位置検出センサからの信号を示す図である。

【図9】本発明の実施の形態1にかかるプレート上に形成されたパターンの特徴を記した図である。

【図10 (a)】本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の、サーミスタとヒータとの位置関係の一例を示す図である。

【図10 (b)】本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の、サーミスタとヒータとの位置関係の別の例を示す図である。

【図11】本発明の実施の形態1にかかるプレートに形成された第2の流路にDNAサンプルが充填されて、該DNAサンプルが第1の流路に充填された分離用DNAコンジュゲート中を移動していく様子を示す図である。

【図12】本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置において、DNAサンプルの吸光度を測定した結果を示す図である。

【図13】本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の原理を説明する図である。

【図14】本発明の実施の形態1にかかるプレートに、パターンを4つ設けた場合の下面を示す図である。

【図15】本発明の実施の形態2にかかる生体サンプル判別装置の構成を示す図である。

【図16】本発明の実施の形態2にかかるプレートの断面図である。

【図17】本発明の実施の形態2にかかる生体サンプル判別装置の別の構成を示す図である。

【図18】本発明の実施の形態2にかかるプレートの別の構成を示す断面図である。

【図19】本発明の実施の形態3にかかるプレートの一例を示す断面図である。

【図20】本発明の実施の形態3にかかるプレートの別の例を示す断面図である。

【図21】本発明の実施の形態3にかかる生体サンプル判別装置の構成の一部を示す図である。

【図22 (a)】本発明の実施の形態4にかかる生体サンプル判別装置の光学検出部の構成の一例を示す図である。

【図22 (b)】本発明の実施形態4にかかる生体サンプル判別装置の光学検出部の構成の別の例を示す図である。

【図22 (c)】本発明の実施の形態4にかかる生体サンプル判別装置の光学検出部の構成の別の例を示す図である。

【符号の説明】

【0174】

10 プレート

10a 開口部

11 嵌合ピン孔

12 位置決めマーク

13 プレート確認マーク

14 キャピラリーシール

15 カバーフィルム

16 洗浄領域

20 充填ユニット
 21 高速回転モータ
 21 a プレート受け部
 22 プレートトレイ
 23 プレート確認センサ
 30 検出ユニット
 31 嵌合ピン
 32 a, 32 b 電極
 33 ヒータ
 34 加圧部
 35 位置決めマーク検出センサ
 36 クランバ
 37 天井板
 38 低速回転モータ
 39, 142 サーミスタ
 40 光学検出部
 41 高さ調整部
 41 a マイクロメータ
 41 b ボイスコイルモータ
 41 c 圧電素子
 42 距離測定部
 50 昇降ステージ
 51 上下動モータ
 52 加圧ポンプ部
 53 ポンプチューブ
 54 装置内温度検出センサ
 55 ヒータ温度検出センサ
 60 筐体
 61 扉
 62 電源スイッチ
 63 LED
 64 冷却ファン
 65 a, 65 b ゴム脚
 66 高圧電源
 67 装置電源
 68 制御基板
 69 a 邪魔板
 69 b フィルタ
 100, 200, 300 生体サンプル判別装置
 110 パターン
 111 第1の電極挿入部
 112 第2の電極挿入部
 113 第1のサンプル注入部
 114 第2のサンプル注入部
 115 サンプルプール
 116 第1の流路
 116 a 内周流路
 116 b 外周流路
 117 第2の流路
 118 第1の電極待機孔

119 第2の電極待機孔
121, 122 電極挿入口
123, 124 サンプル注入口
131, 132, 135 空気孔
136 加圧待機孔
141 ヒータ電極薄膜
143a 第1の電極
143b 第2の電極
232a, 232b 電極接点ピン
233 ヒータ接点ピン
239 サーミスタ接点ピン
301 電極洗浄槽

【配列表】

Organization Applicant

<110> OrganizationName : Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.

Application Project

<120> Title : Apparatus and method for determining a biological sample, and Plat
e for apparatus for determining a biological sample

<130> AppFileReference : 2892050245

<140> CurrentAppNumber :

<141> CurrentFilingDate : _____

Sequence

<213> OrganismName : Homo sapiens

<400> PreSequenceString :

atcgcgt

7

<212> Type : DNA

<211> Length : 7

SequenceName : 1

SequenceDescription :

Sequence

<213> OrganismName : Homo sapiens

<400> PreSequenceString :

acgcgat

7

<212> Type : DNA

<211> Length : 7

SequenceName : 2

SequenceDescription :

Sequence

<213> OrganismName : Homo sapiens

<400> PreSequenceString :

taacgggt

7

<212> Type : DNA

<211> Length : 7

SequenceName : 3

SequenceDescription :

Sequence

<213> OrganismName : Homo sapiens

<400> PreSequenceString :

atgtggaaacc tttactaaag

20

<212> Type : DNA

<211> Length : 20

SequenceName : 4

SequenceDescription :

Sequence

<213> OrganismName : Homo sapience

<400> PreSequenceString :

atgtggaacc gttactaaag

20

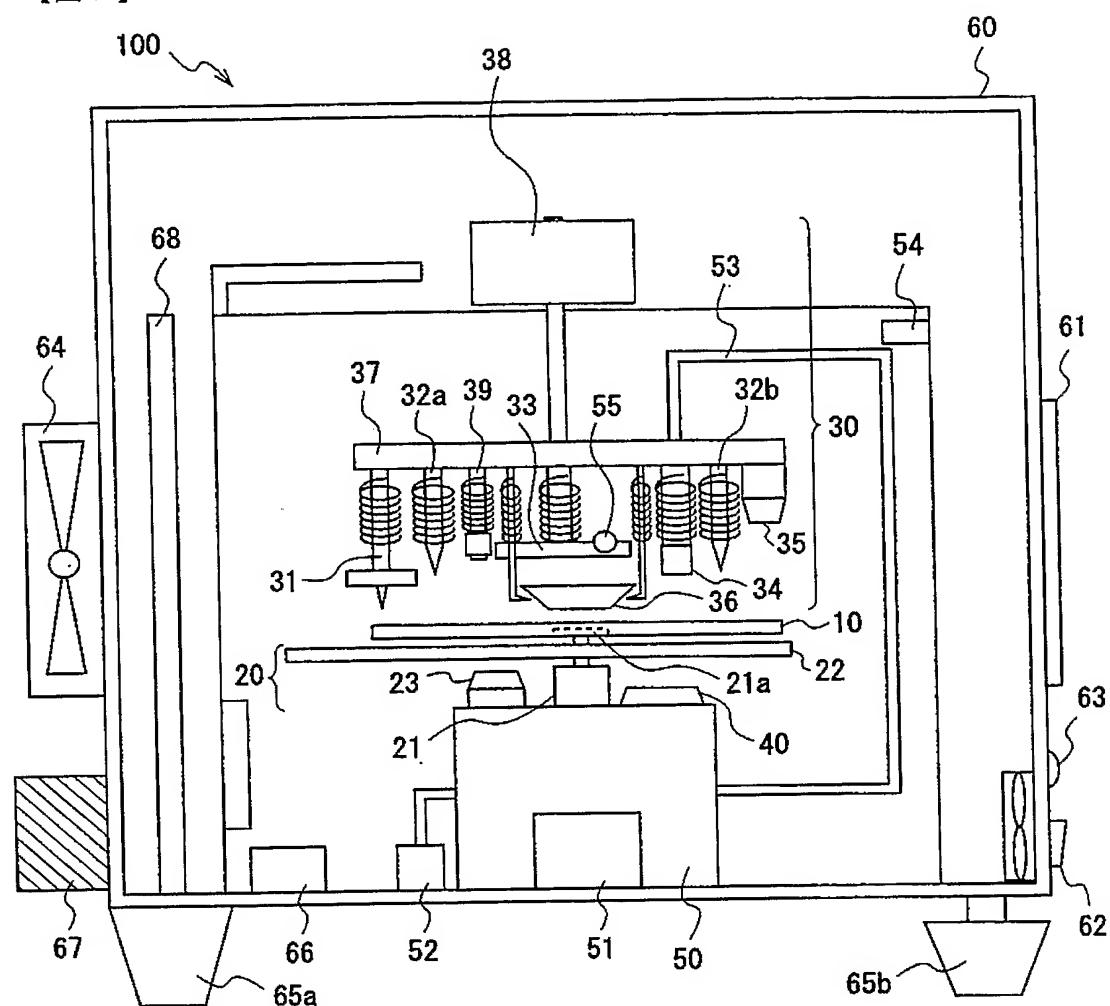
<212> Type : DNA

<211> Length : 20

SequenceName : 5

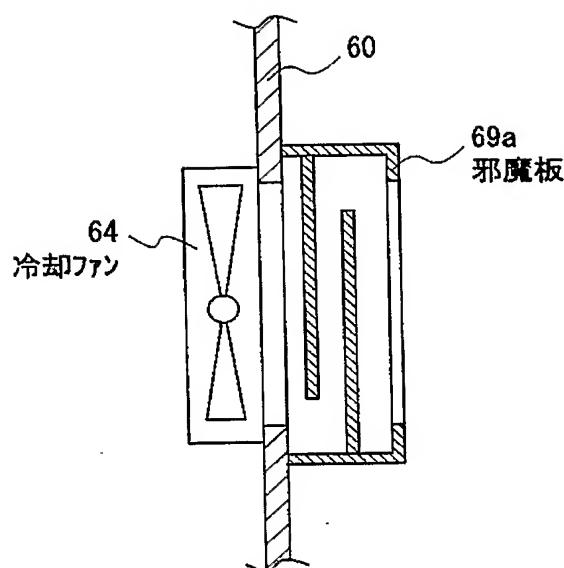
SequenceDescription :

【書類名】 図面
【図 1】

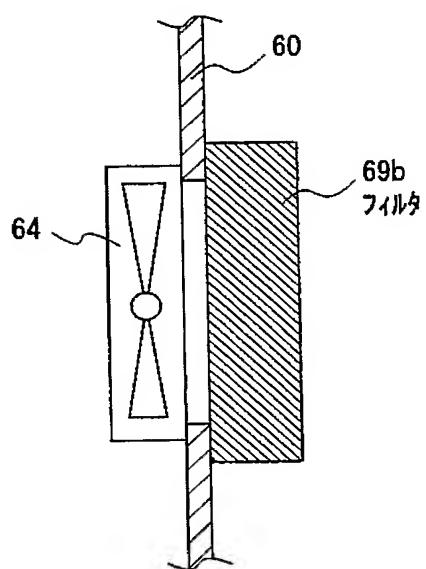


100：生体サンプル判別装置
10：プレート
20：充填ユニット
30：検出ユニット
40：光学検出部
50：昇降ステージ

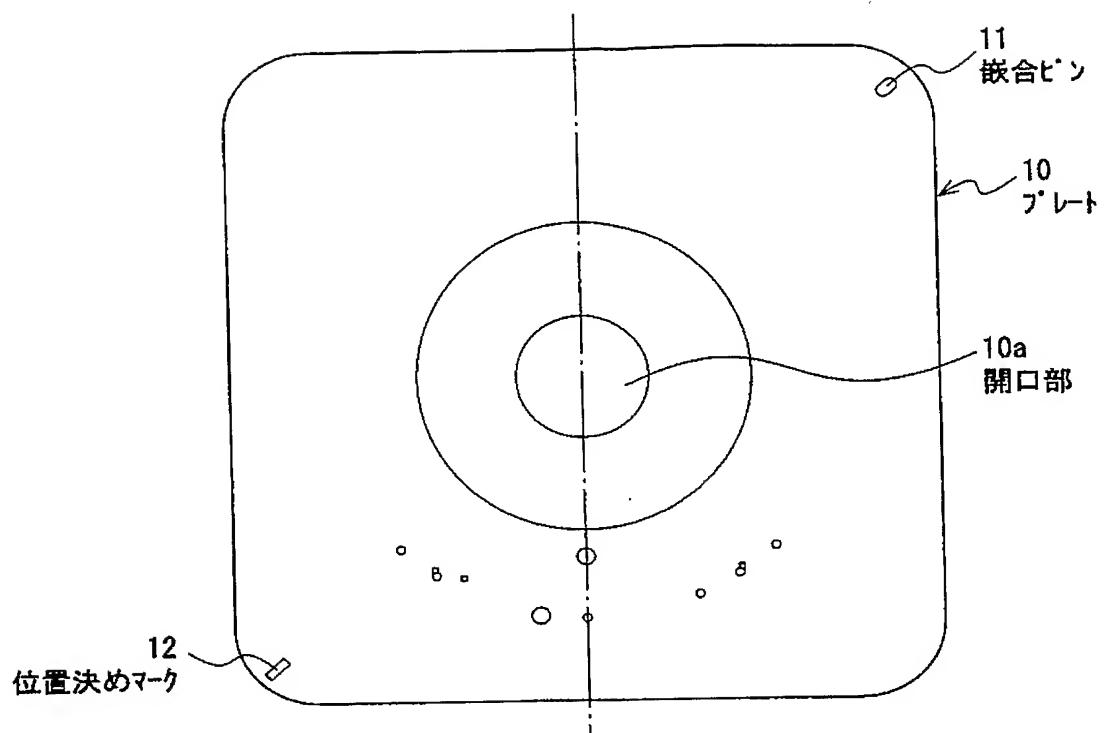
【図2 (a)】



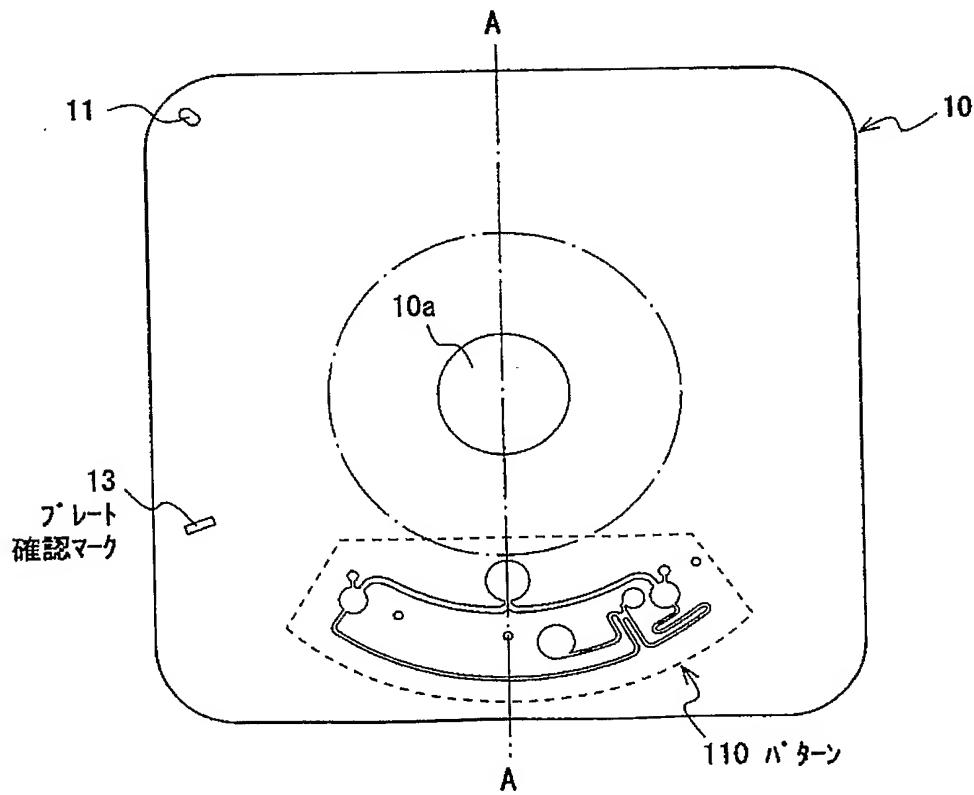
【図2 (b)】



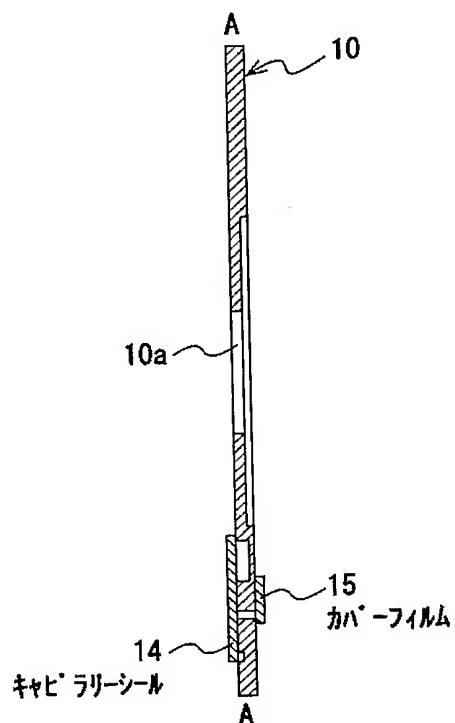
【図3 (a)】



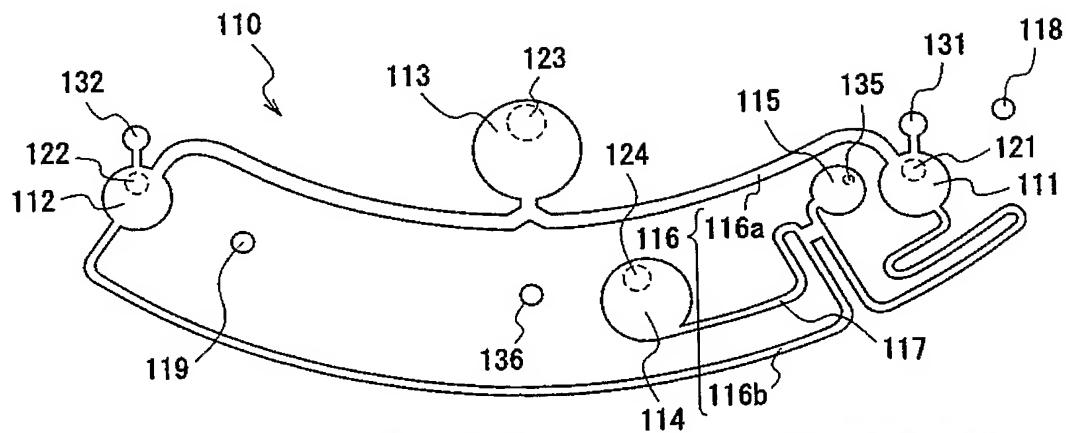
【図3 (b)】



【図3 (c)】

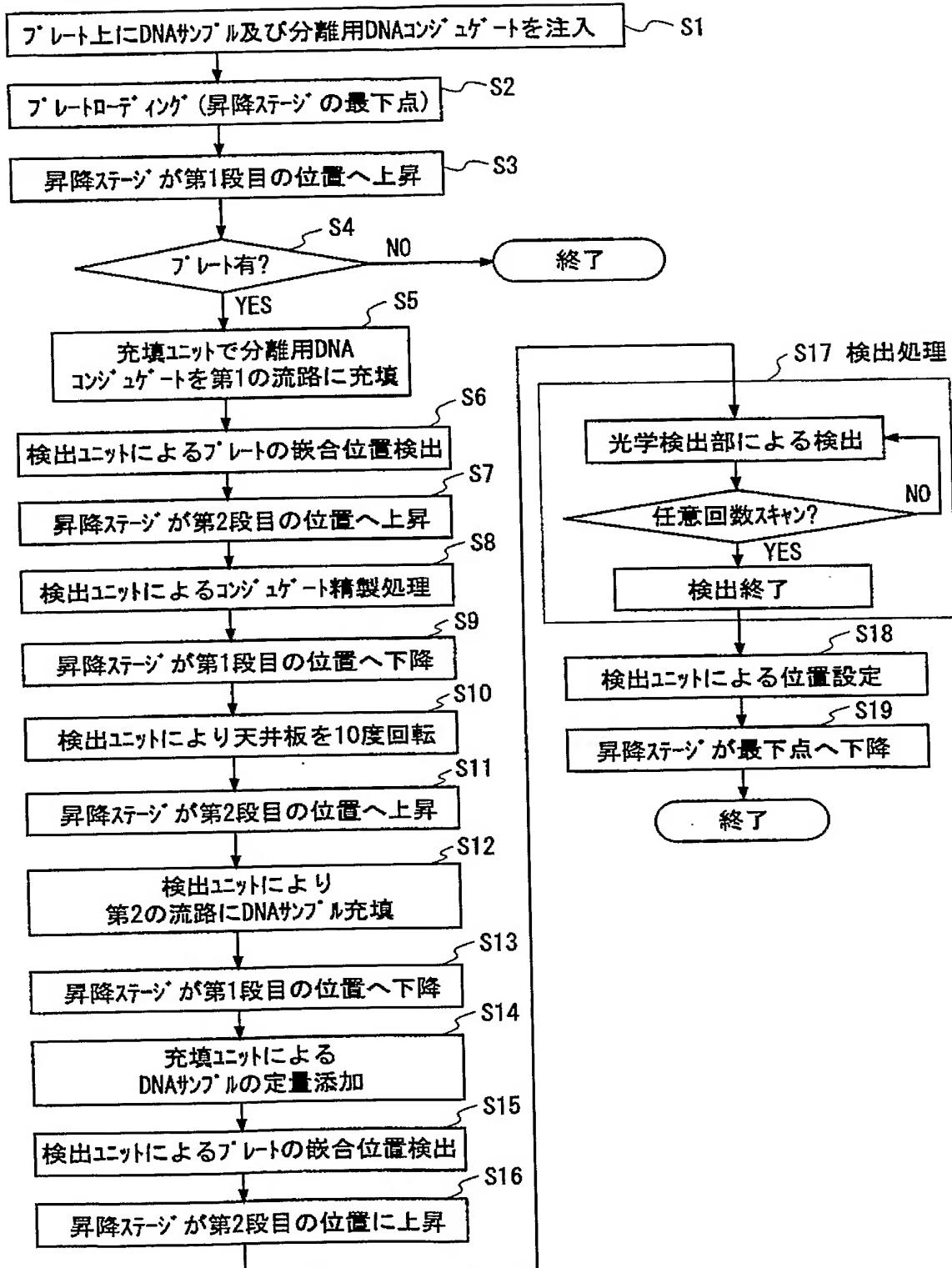


【図4】

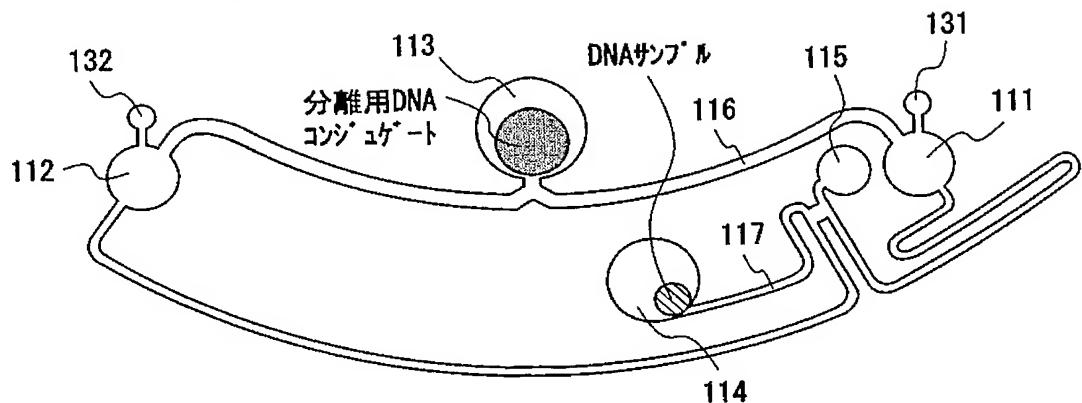


111 : 第1の電極挿入部	118 : 第1の電極待機孔
112 : 第2の電極挿入部	119 : 第2の電極待機孔
113 : 第1のサンプル注入部	121, 122 : 電極挿入口
114 : 第2のサンプル注入部	123, 124 : サンプル注入口
115 : サンプルホール	131, 132, 135 : 空気孔
116 : 第1の流路	136 : 加圧待機孔
117 : 第2の流路	

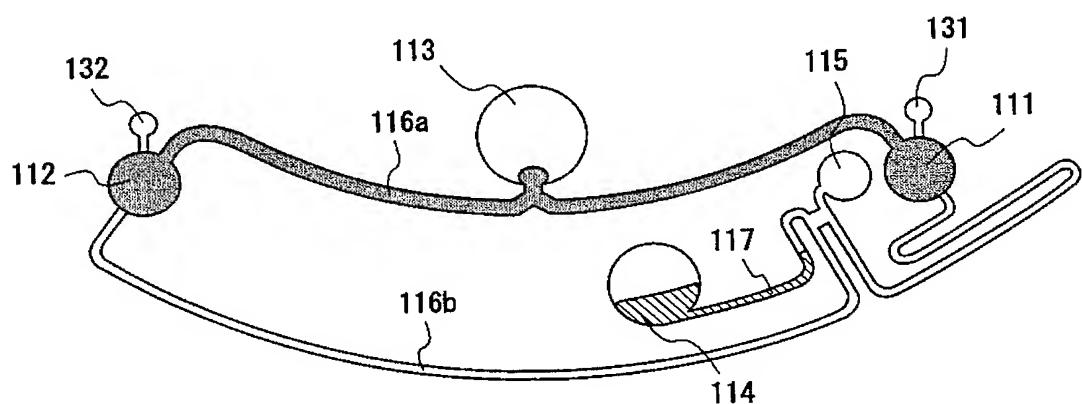
【図5】



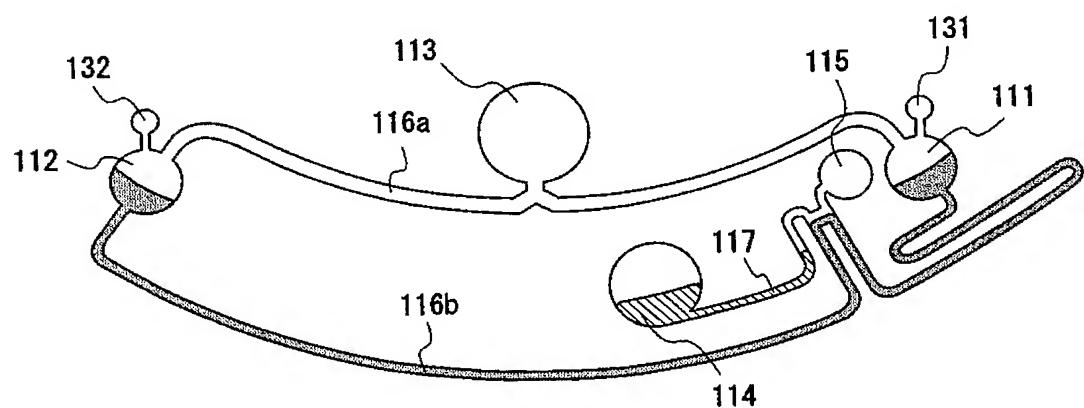
【図6 (a)】



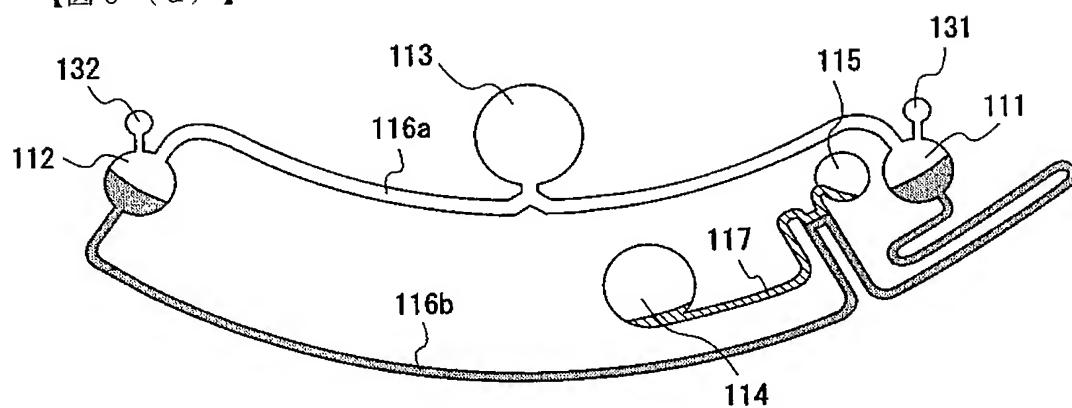
【図6 (b)】



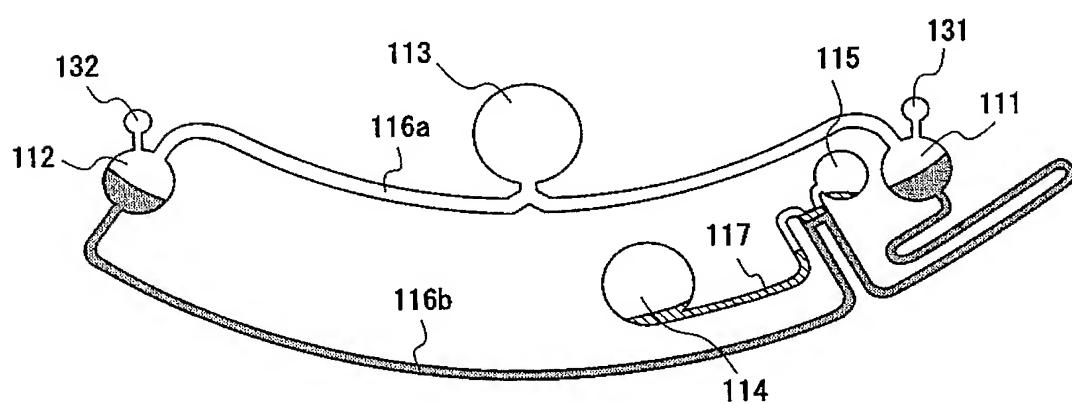
【図6 (c)】



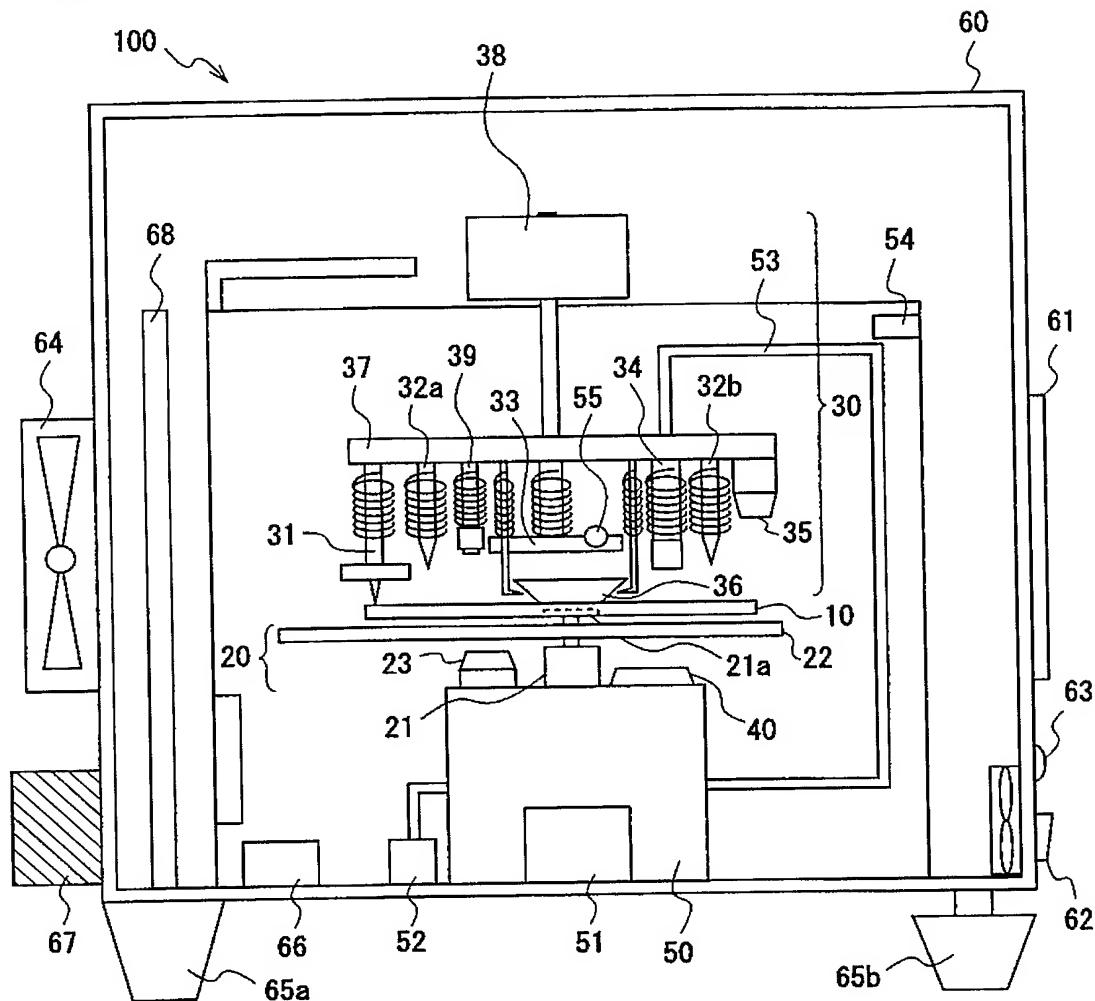
【図6 (d)】



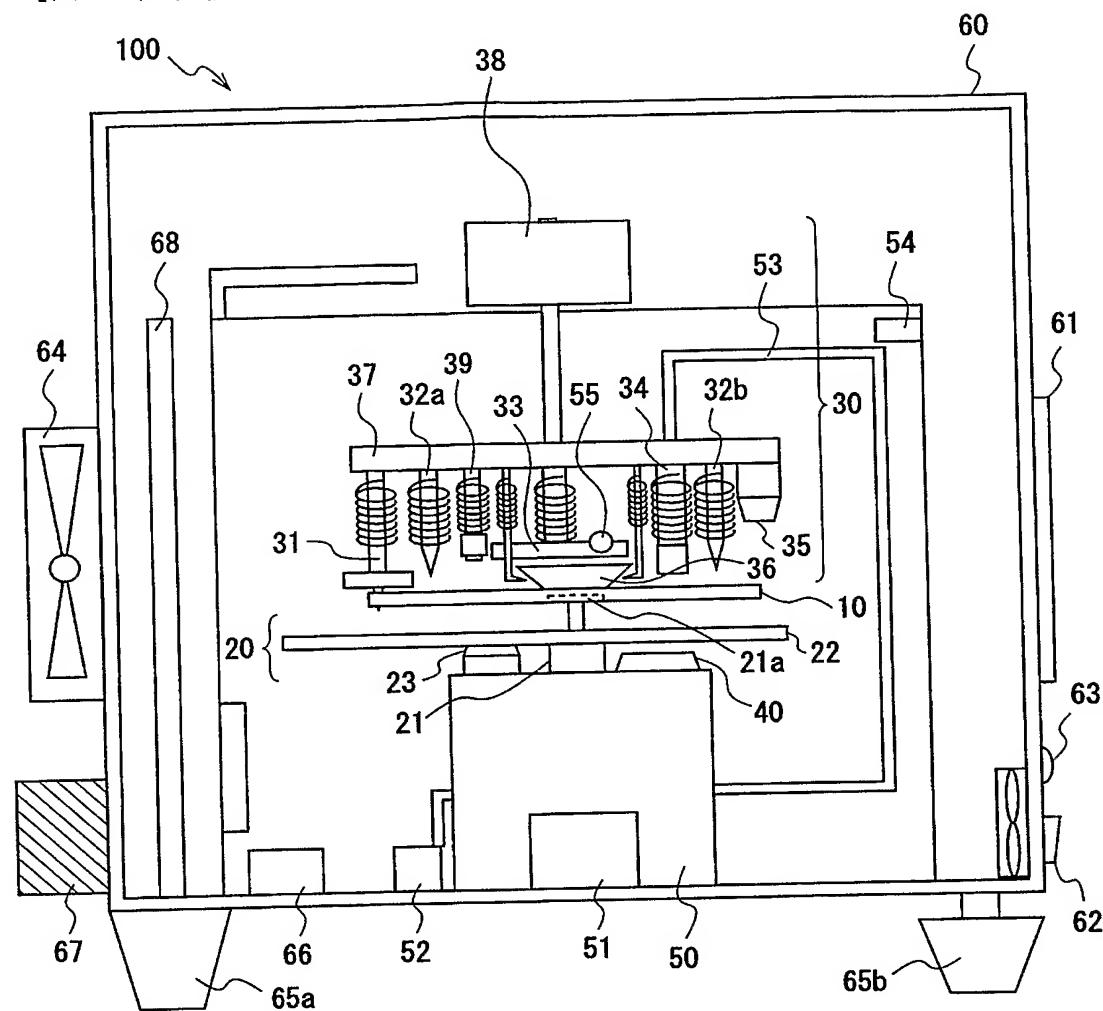
【図6 (e)】



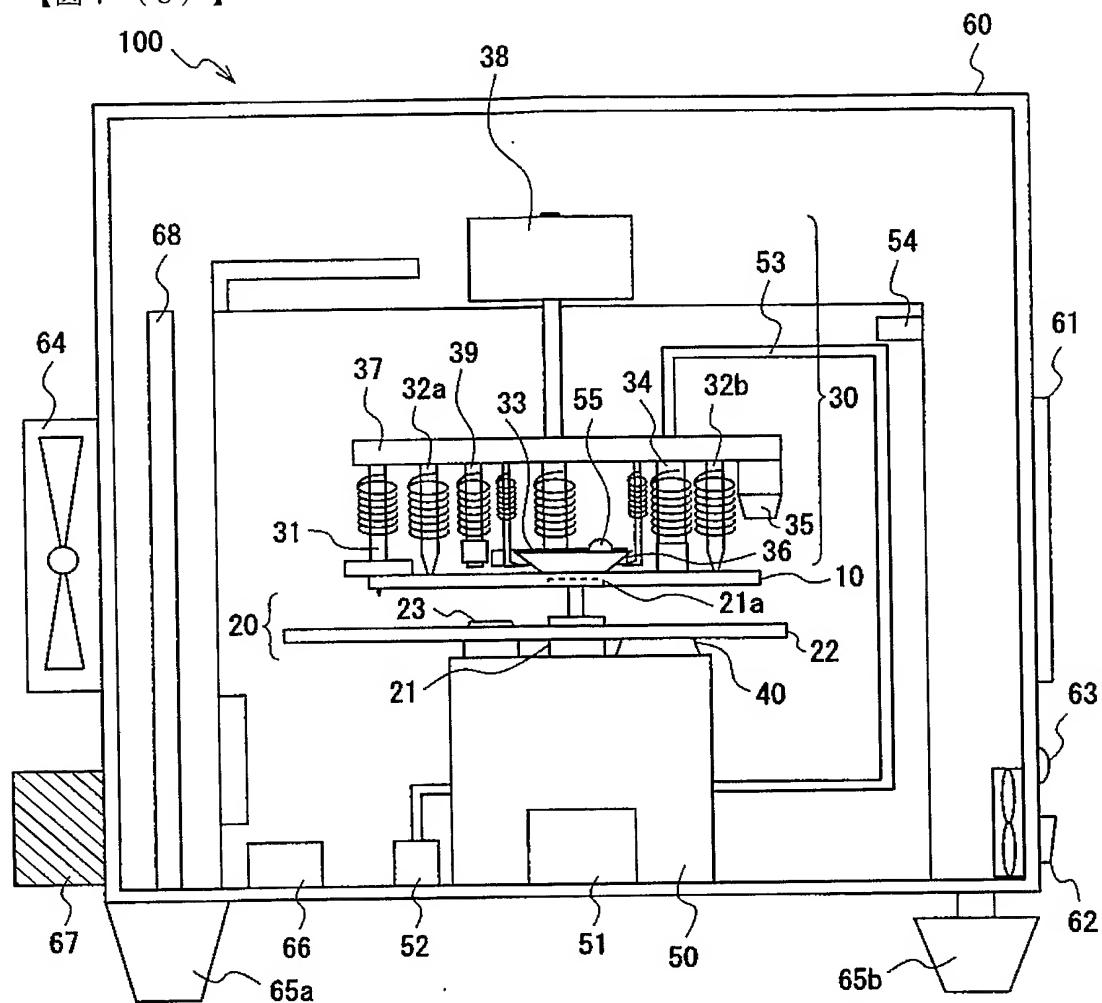
【図 7 (a)】



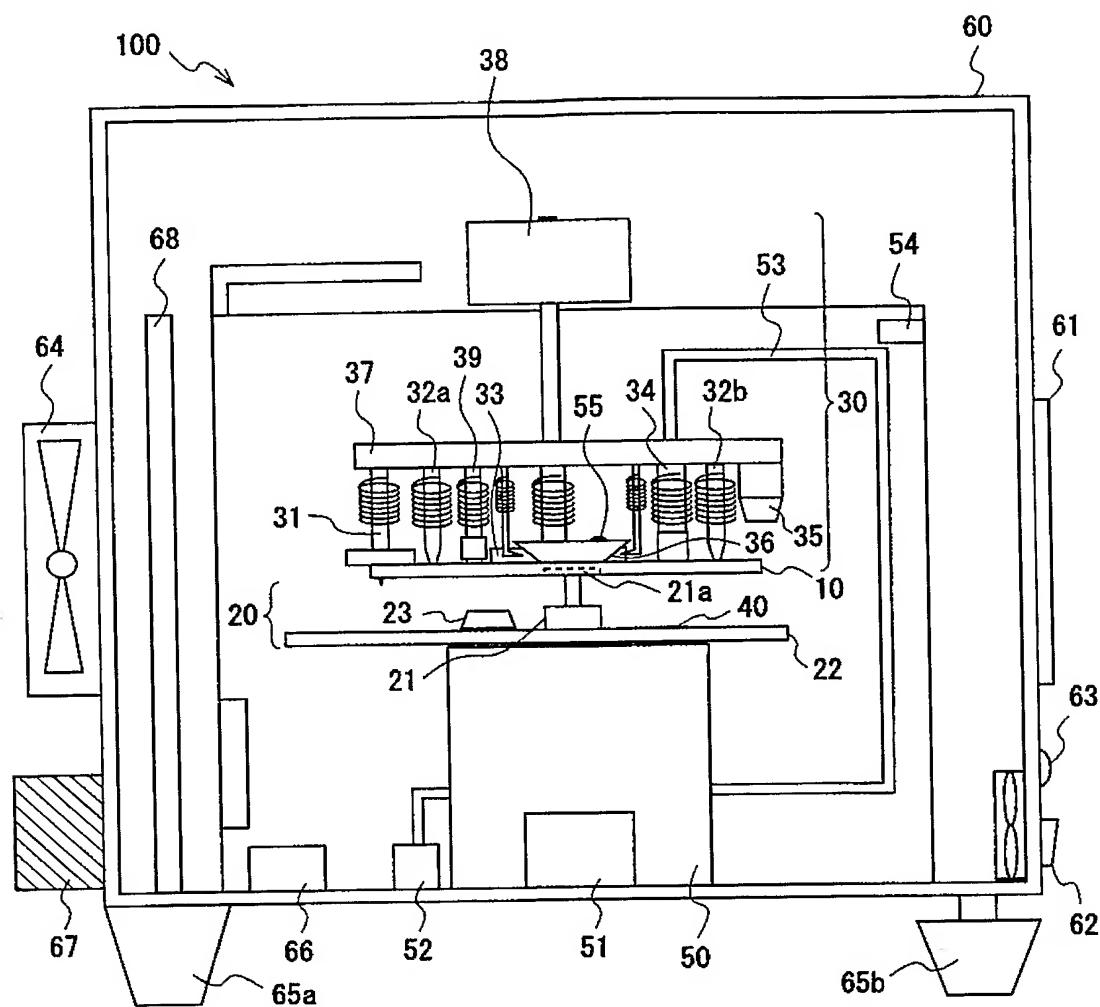
【図 7 (b)】



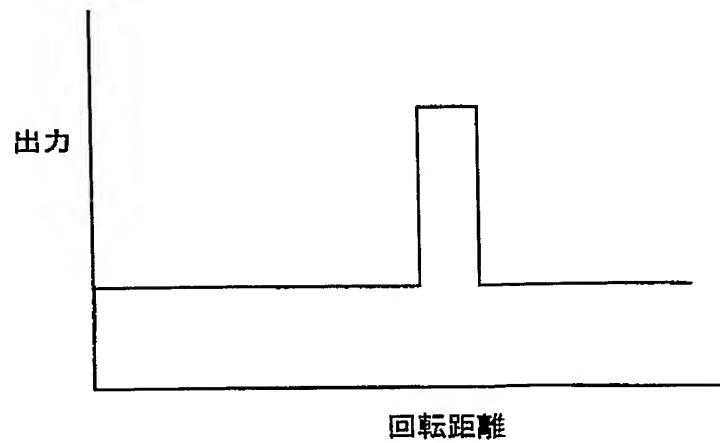
【図 7 (c)】



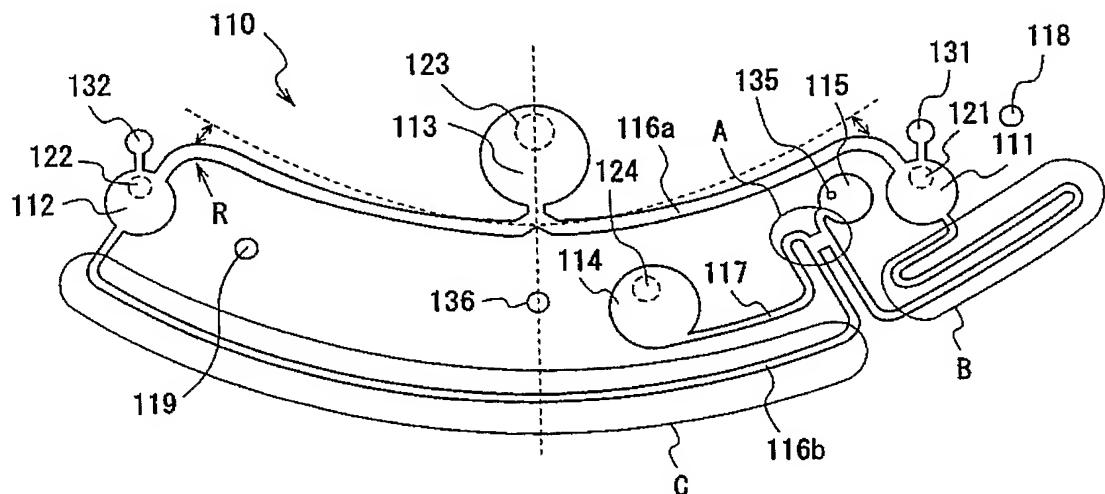
【図7 (d)】



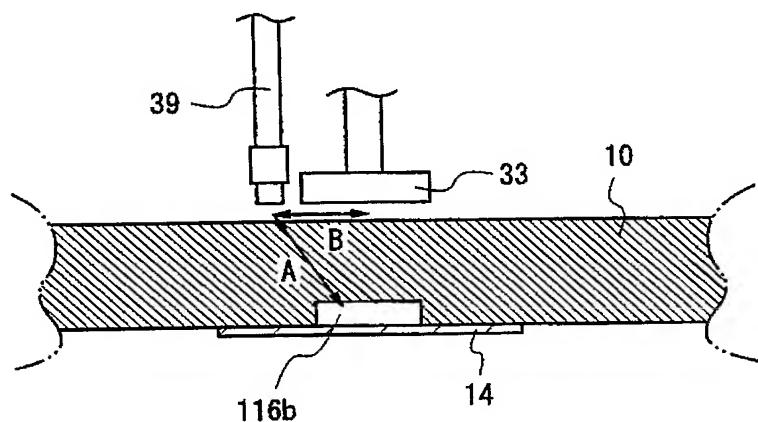
【図8】



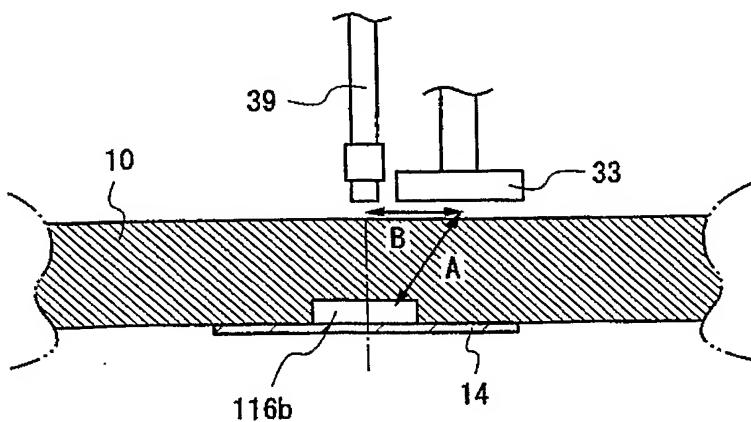
【図9】



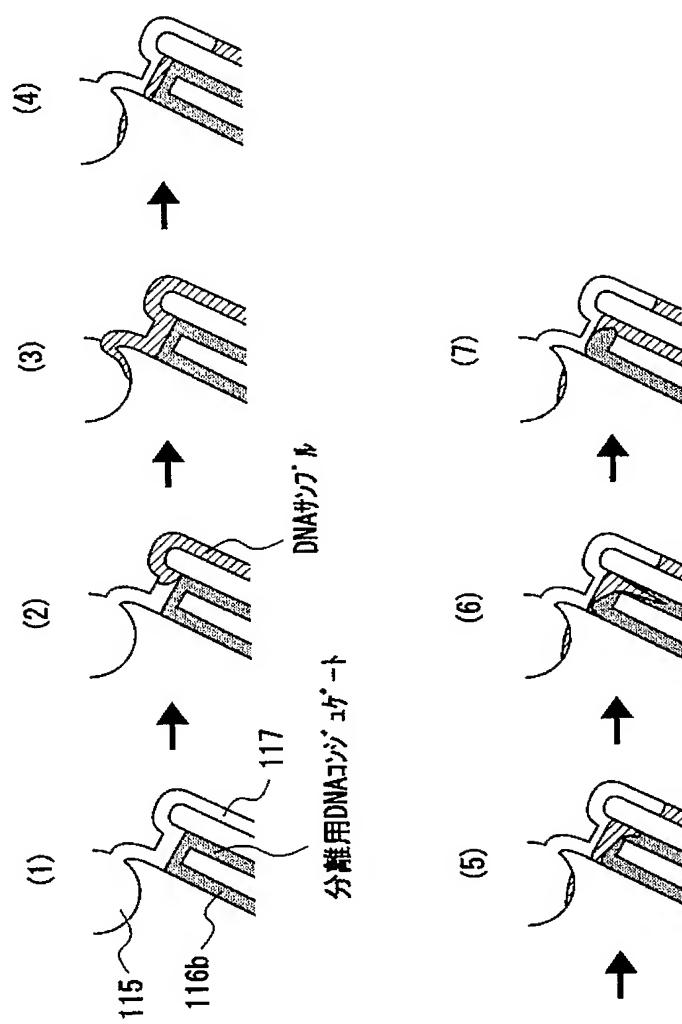
【図10(a)】



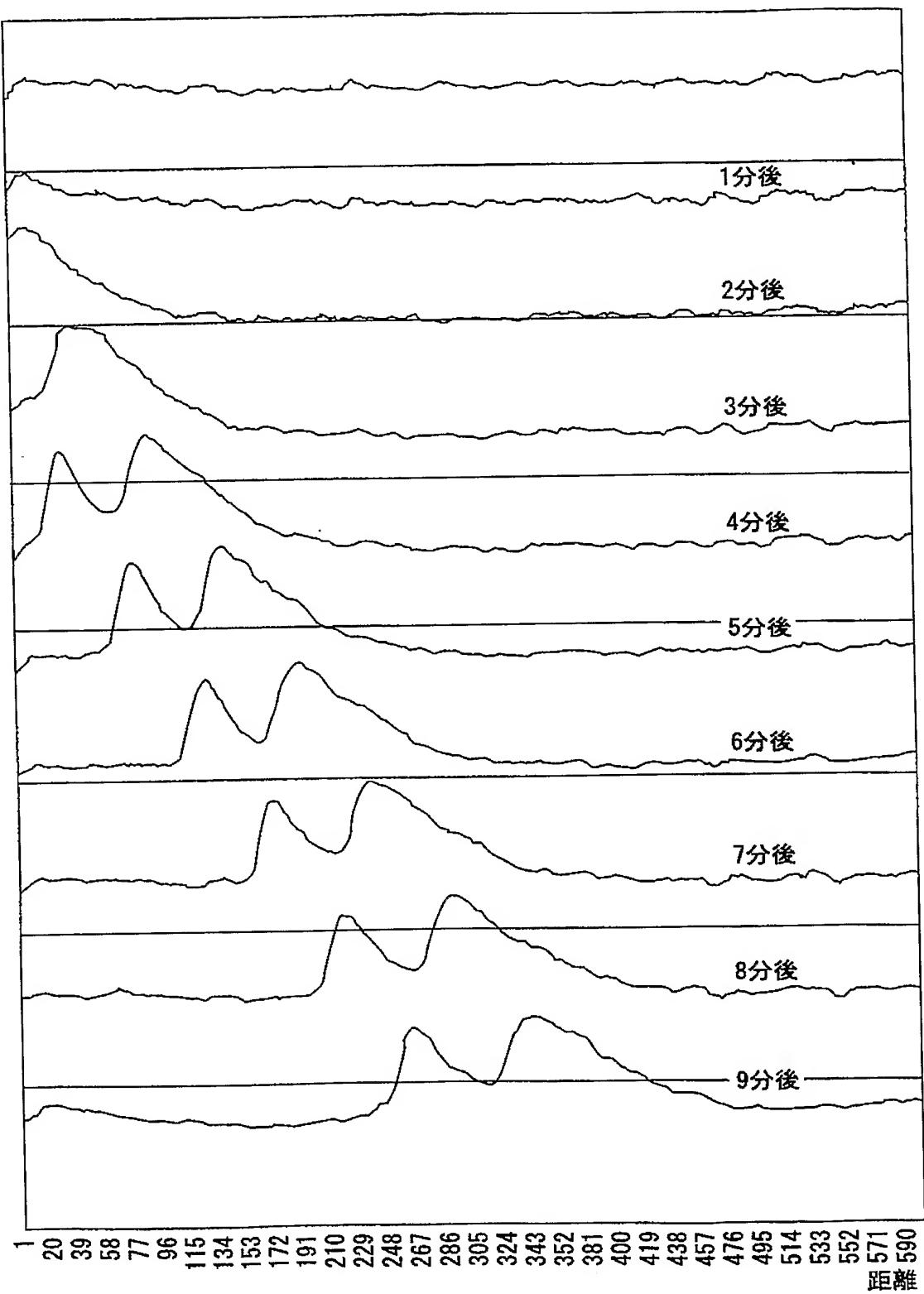
【図10 (b)】



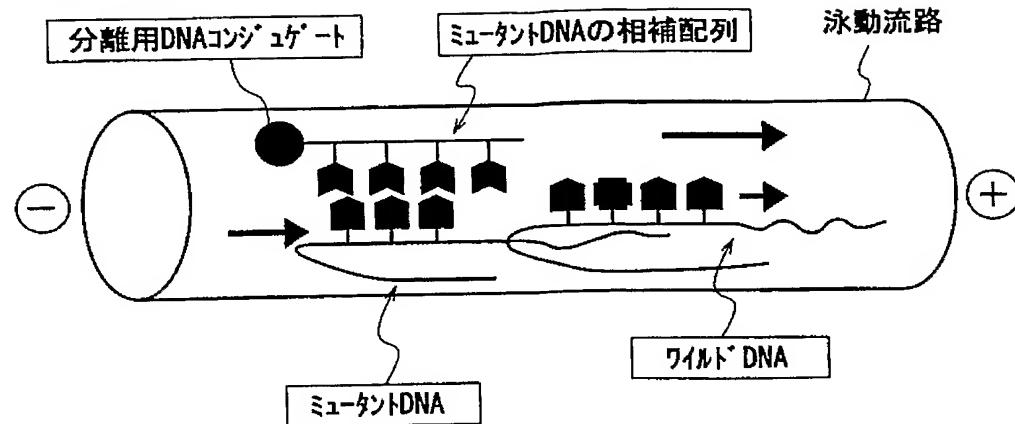
【図11】



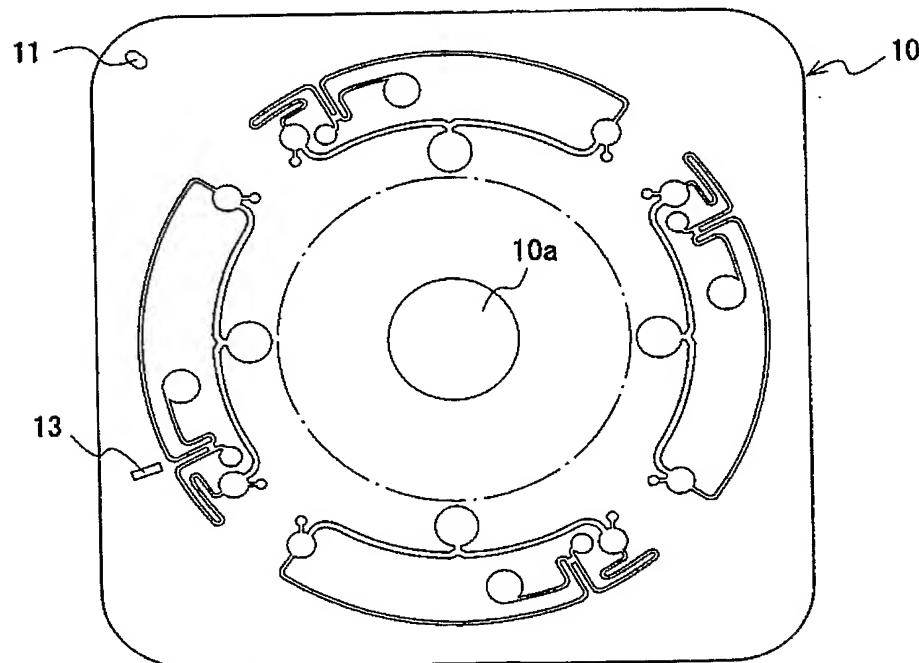
【図 12】



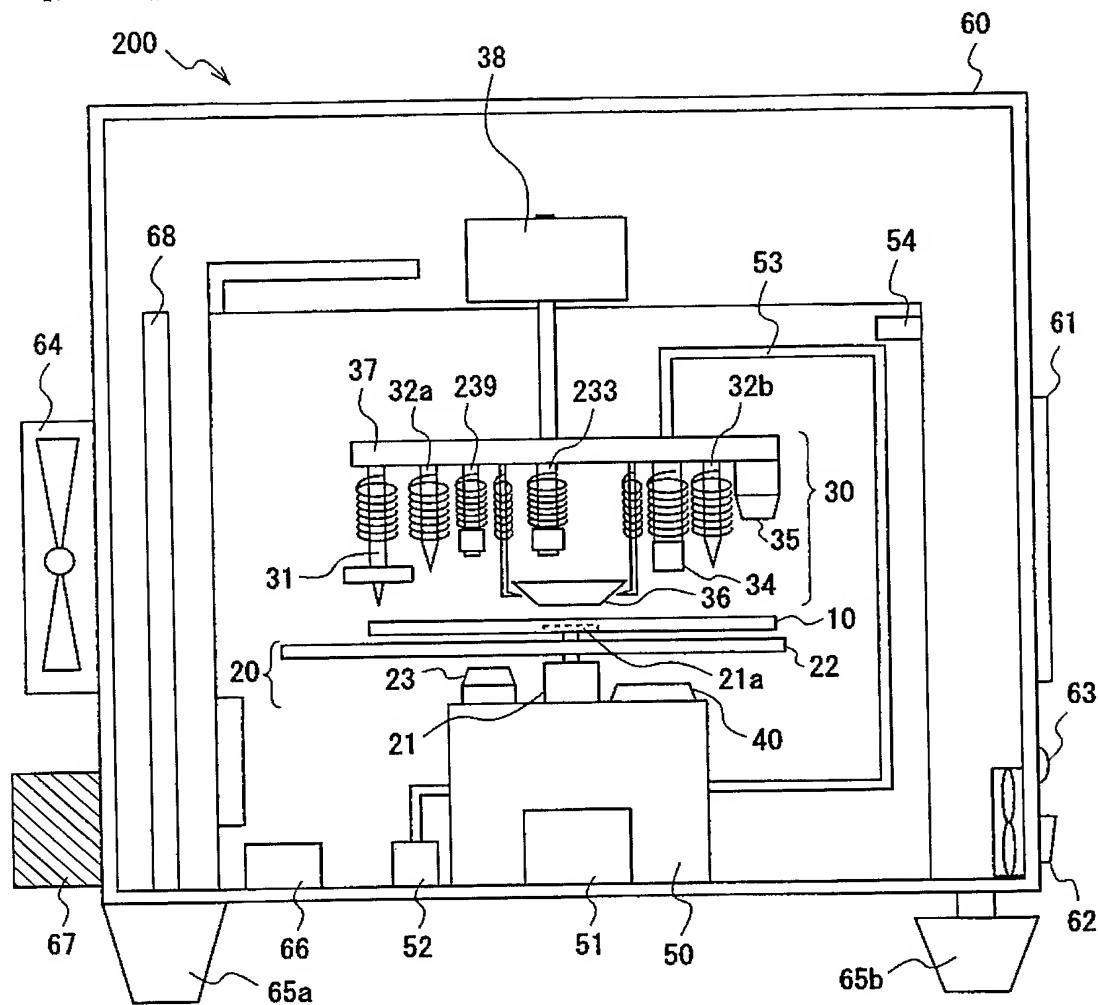
【図 1.3】



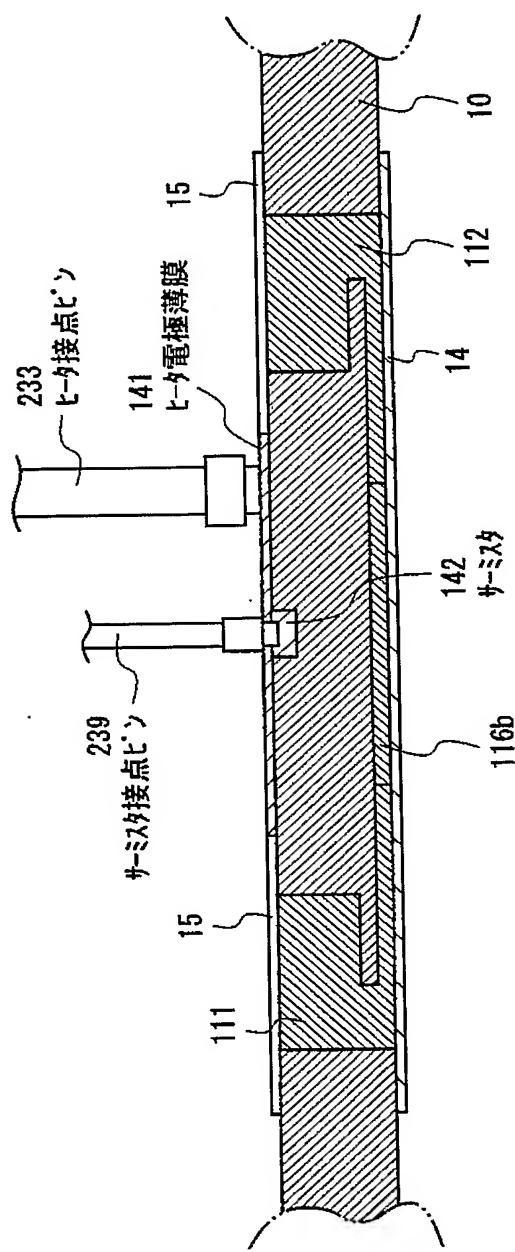
【図 1.4】



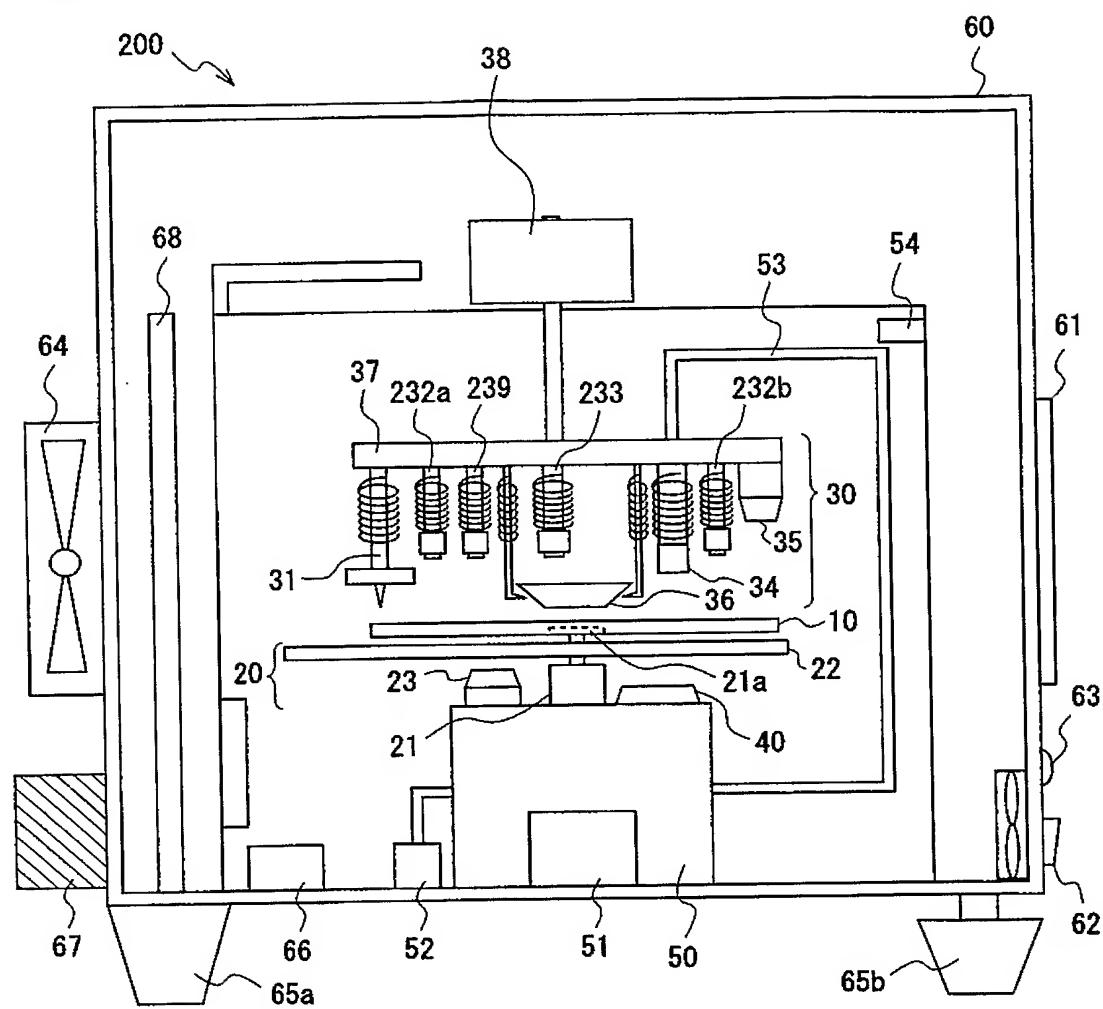
【図15】



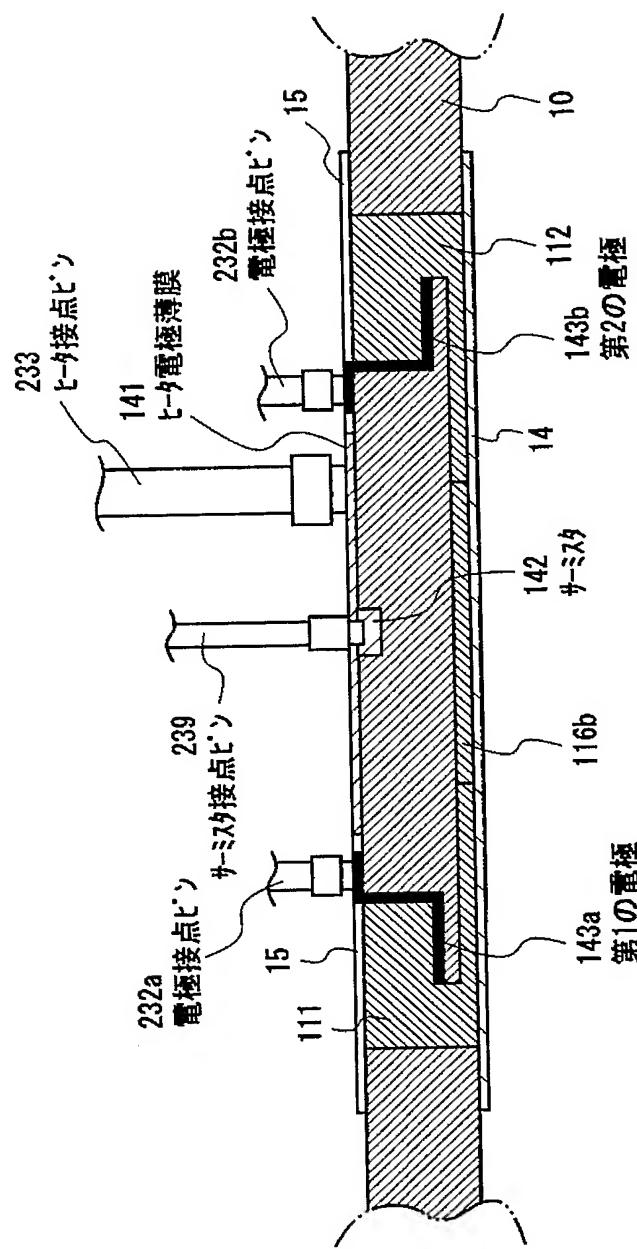
【図16】



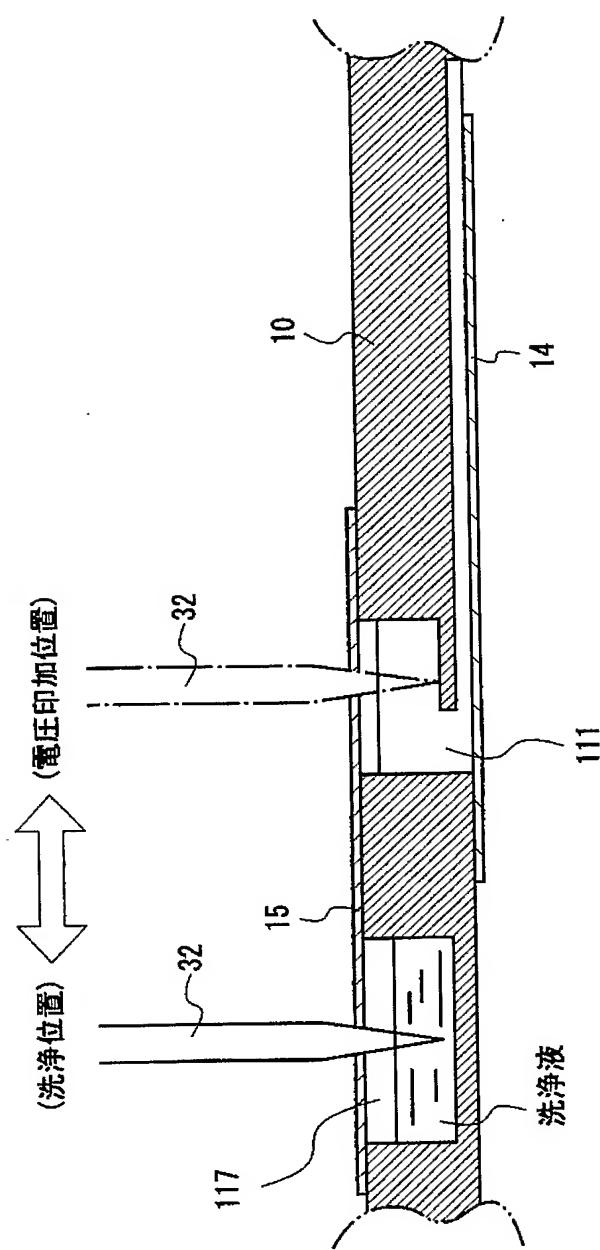
【図17】



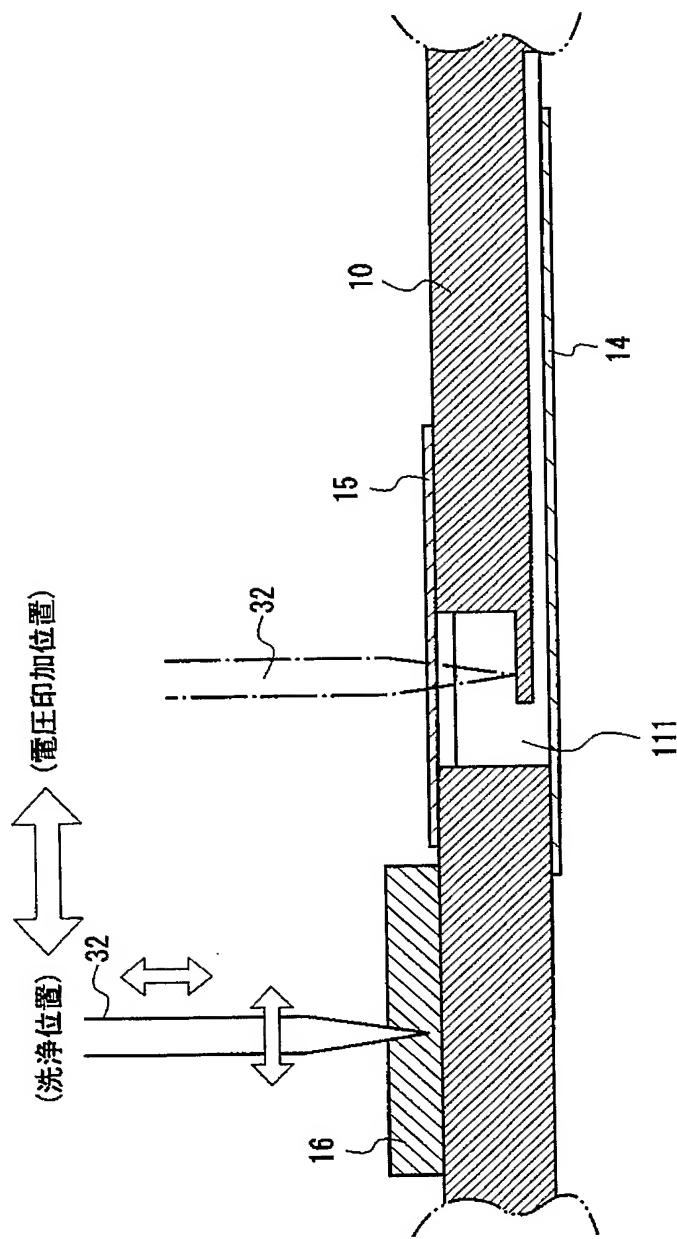
【図 18】



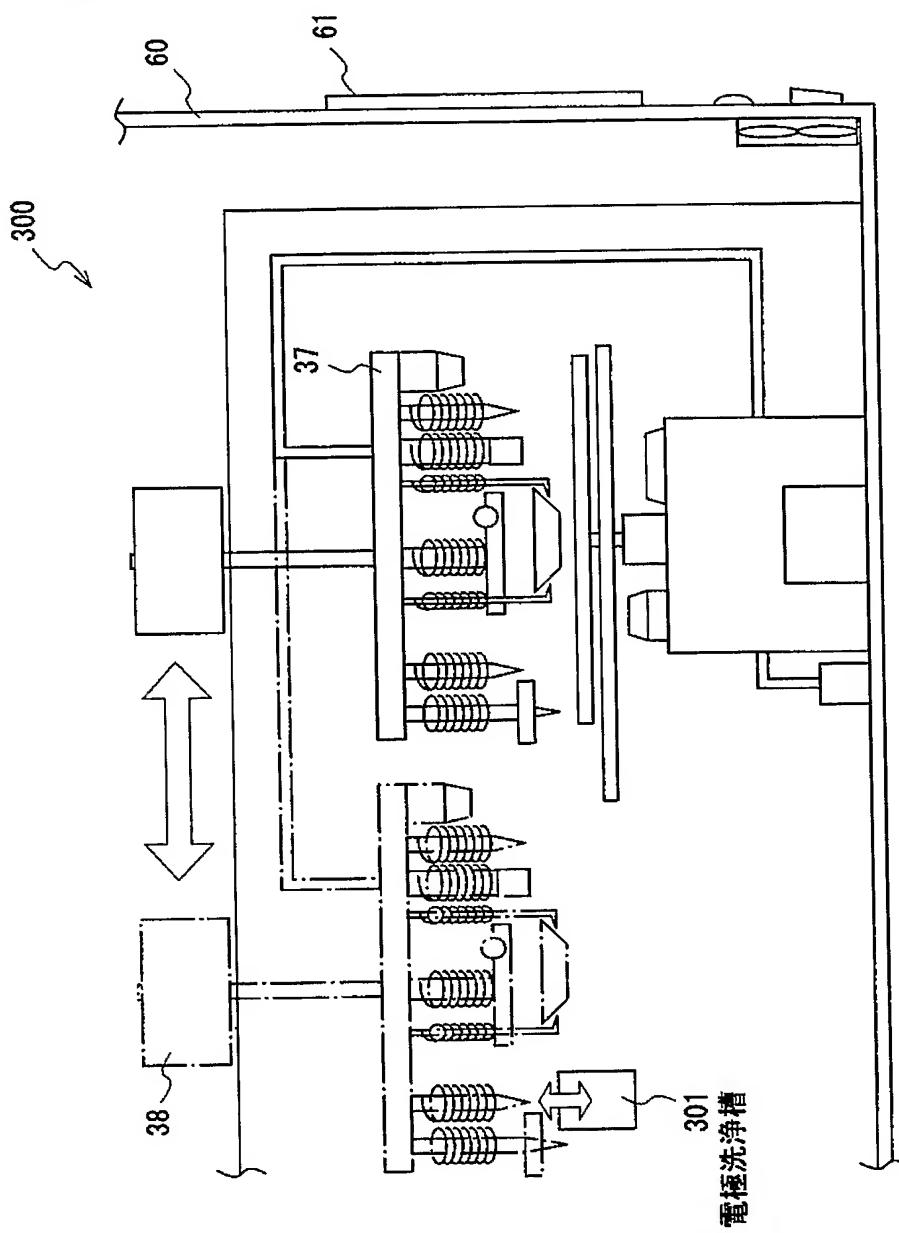
【図19】



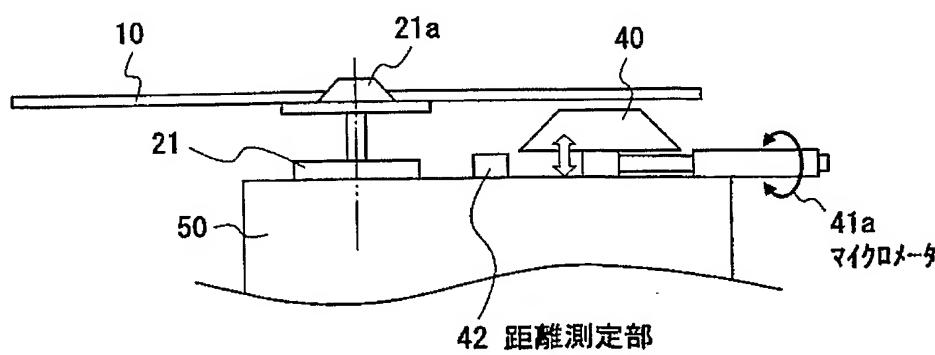
【図20】



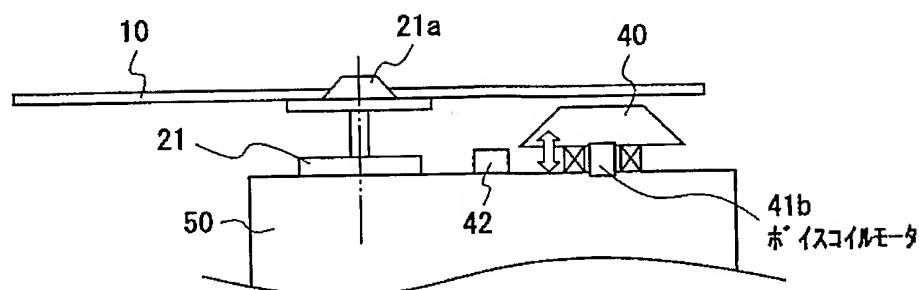
【図 2 1】



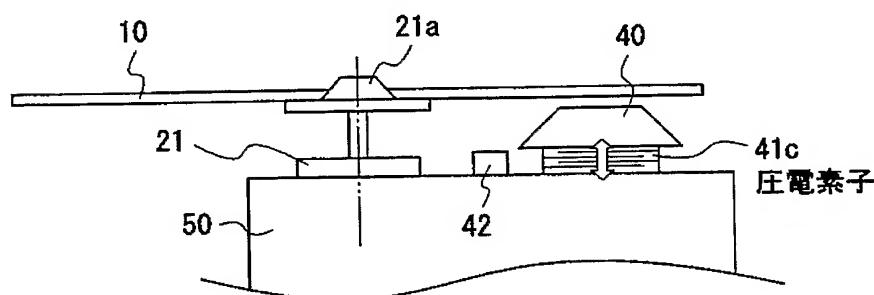
【図 2 2 (a)】



【図 22 (b)】



【図 22 (c)】



【書類名】要約書

【要約】

【課題】 流路中に充填された緩衝剤中で生体サンプルを移動させた際に得られる輸送反応を検出して該生体サンプルの判別を行う際に、煩雑な準備作業が不要で、正確且つ短時間に結果が得られる、小型且つ軽量で、安価な生体サンプル判別装置を提供する。

【解決手段】 昇降ステージ50を上下動モータ51によって、装置内を上下に移動させて、緩衝剤が注入される第1の流路116と、該第1の流路と流路の一部を共通にする生体サンプルが注入される第2の流路117からなるパターンが形成されたプレート10を上下移動させ、充填ユニット20によって前記第1の流路116に緩衝剤を充填させた後、検出ユニット30によってプレート10を低速回転させて、該第1の流路に充填された緩衝剤中を移動する生体サンプルの光学検出処理を行うようにした。

【選択図】 図1

特願 2003-434073

出願人履歴情報

識別番号 [000005821]

1. 変更年月日 1990年 8月28日

[変更理由] 新規登録

住所 大阪府門真市大字門真1006番地
氏名 松下電器産業株式会社